

Rapport de stage

Mention/Option : deuxième année
Spécialité : ingénieur agronome

**Résistance de l'aubergine au flétrissement
bactérien (*Ralstonia solanacearum*) :
cartographie génétique de la résistance de
MM195 et caractérisation phénotypique de
l'interaction *ERs1* / *popP2***

par Emilie MORIN

Rapport préparé sous la direction de :

Elsa BALLINI

Maîtres de stage :

Emmanuel WICKER

Jacques DINTINGER

Présenté le : 08/09/2011

Organisme d'accueil : CIRAD Réunion, Pôle Protection des Plantes

Année de soutenance : 2011

Organisme d'accueil : CIRAD Réunion, Pôle Protection des Plantes

Rapport de stage

Mention/Option : deuxième année
Spécialité : ingénieur agronome

**Résistance de l'aubergine au flétrissement bactérien
(*Ralstonia solanacearum*) : cartographie génétique
de la résistance de MM195 et caractérisation
phénotypique de l'interaction *ERs1* / *popP2***



par Emilie MORIN

Année de soutenance : 2011

REMERCIEMENTS

Je remercie Jacques Dintinger et Emmanuel Wicker pour m'avoir offert la possibilité de réaliser un stage au CIRAD et de m'avoir apporté les éléments nécessaires à son bon déroulement. Je tiens également à remercier Aurore Lebeau qui s'est beaucoup investie, m'a fait partager son expérience et m'a soutenue. Un grand merci à Jean-Michel Baptiste et Sylvain Lebon qui m'ont prise en charge pour les essais en serre et avec qui j'ai beaucoup appris. Je remercie Jean-Jacques Cheron pour ses conseils et son appui en microbiologie. Je n'oublie pas Carine Nguessan qui a donné de son temps pour m'aider dans les essais ainsi que pour me transmettre ses connaissances autant pratiques que théoriques. Merci à Frédéric Chiroleu pour la formation R d'une part, et pour avoir mis ses talents de statisticien à notre disposition. Je tiens à remercier aussi Philippe Prior qui m'a apporté son expérience et ses conseils, ainsi que Marcel Aribaud pour son regard critique sur les essais et ses recommandations. Je remercie Flora Pensec sur qui j'ai pu reprendre l'introduction. Enfin, un grand merci à Antufa Ali et à tous ceux qui ont participé à la mise en place des essais et qui ont mis la main à la pâte lors des travaux en serre, à ceux qui m'ont aidé à trouver mes marques au laboratoire mais aussi à m'intégrer et avec qui j'ai partagé de bons moments.

RESUME

Ralstonia solanacearum, bactérie tellurique responsable du flétrissement bactérien, est une contrainte biotique majeure pour les cultures maraîchères en zones tropicale et subtropicale. La résistance variétale reste la méthode de lutte la plus prometteuse contre cette maladie, mais la recherche d'accessions universellement résistantes est rendue difficile par (i) les niveaux moyens de résistance enregistrés, (ii) la forte interaction avec l'environnement, et (iii) la grande plasticité génotypique et phénotypique de la bactérie. Les travaux effectués durant la thèse d'A. LEBEAU ont permis d'établir que la résistance de l'aubergine AG91-25 (ou E6) était conférée par un gène majeur dominant (*ERs1*) et au moins un QTL mineur. Le gène *ERs1* confère une résistance totale à 3 souches (dont GMI1000, premier génome de *R.solanacearum* séquencé), mais est contourné par une des 4 souches (PSS4, ou RUN157). L'étude d'une autre source de résistance (croisement *S. melongena* MM738(S) * *S. linneanum* MM195 (R)) a été entreprise, avec l'inoculation préalable de la souche PSS4.

Le présent stage avait pour premier objectif de cartographier les facteurs de résistance de MM195 aux deux souches GMI1000 et PSS4. La cinétique de maladie provoquée par la souche GMI1000 en serre, a été suivie et analysée sur une population de 60 lignées F3. Malgré un fort effet induit par la saison et le biais induit par le faible effectif étudié, nous avons pu localiser un QTL de résistance commun face à GMI1000 et PSS4 sur le groupe de liaison 9 de la carte génétique générée à partir de marqueurs AFLP.

Parallèlement, l'étude de la distribution des effecteurs de type III chez *R.solanacearum* avait permis d'identifier plusieurs effecteurs hautement associés à l'aviorulence (popP1 et pop2 entre autres) et à la virulence sur aubergine, notamment sur l'accession AG91-25, porteuse du gène majeur de résistance *ERs1*. Le second objectif de ce stage était donc de tester l'hypothèse que la résistance conférée par *ERs1* était induite spécifiquement par la reconnaissance de PopP2. Des tests visant à mettre en évidence des réactions d'hypersensibilité sur de lignées issues du croisement de AG91-25 et de MM738 ont donc été menés avec pour modèle présentant *ERs1* : AG91-25 (E6), et comme contrôle sans *ERs1* : MM738 (E8). Toutefois, l'incertitude concernant la nature des deux allèles de PopP2 testés, l'influence probable d'autres effecteurs, les biais liés à la méthodologie et le faible nombre de répétitions n'ont pas permis de confirmer l'hypothèse d'une relation gène à gène. Néanmoins, les résultats obtenus mettent en évidence une influence combinée du phylotype et de l'allèle sur le comportement des souches et leur capacité à coloniser la plante.

TABLE DES MATIERES

RESUME	4
1. INTRODUCTION BIBLIOGRAPHIQUE.....	6
1.1. <i>Ralstonia solanacearum</i> , agent du flétrissement bactérien:.....	6
1.1.1. Gamme d'hôtes et répartition géographique	6
1.1.2. Le flétrissement bactérien : symptômes, cycle infectieux	6
1.2. L'agent pathogène <i>Ralstonia solanacearum</i>	8
1.2.1. La structure du génome	8
1.2.2. Taxonomie et phylogénie.....	8
1.2.3. Déterminants génétiques du pouvoir pathogène	9
1.3. Stratégies de lutte.....	14
1.3.1. La lutte réglementaire.....	14
1.3.2. La lutte prophylactique	14
1.3.3. La lutte culturale	14
1.3.4. Les luttes physique et chimique.....	14
1.3.5. La lutte biologique	15
1.3.6. La lutte génétique : sélection et utilisation de variétés résistantes	15
1.4. Les interactions plante / <i>R.solanacearum</i>	15
1.4.1. Génétique de la résistance d' <i>Arabidopsis thaliana</i>	15
1.4.2. Génétique de la résistance chez les Solanacées	17
1.4.3. Typologies d'interactions <i>R.solanacearum</i> / Solanacées à graines : pathoprofils et pathotypes ..	17
2. PROBLEMATIQUE DE L'ETUDE.....	19
2.1. Contexte	19
2.2. Objectifs et démarche	19
3. MATERIEL ET METHODES.....	20
3.1. Matériel végétal.....	20
3.2. Souches bactériennes.....	22
3.3. Cartographie de la résistance au flétrissement bactérien sur la population F2:3[MM738 x MM195]	23
3.3.1. Etablissement de la carte génétique.....	23
3.3.2. Tests de résistance des lignées F3	23
3.3.3. Recherche de QTLs.....	24
3.4. Caractérisation phénotypique de l'interaction <i>ERs1/PopP2</i>	26
3.4.1. Réalisation d'un test préliminaire sur les lignées E1, E4 et E6.....	26
3.4.2. Etude de HR sur les 13 lignées d'aubergine inoculées par les 10 souches	26
4. RESULTATS.....	30
4.1. Cartographie de la résistance de MM195 à GMI1000 et PSS4.....	30
4.1.1. Analyses phénotypiques	30
4.1.2. Analyses génétiques et recherche de QTL	33
4.2. Caractérisation phénotypique de l'interaction entre <i>PopP2/ERs1</i>	37
4.2.1. Corrélation entre notes de nécrose et absence de colonisation	37
4.2.2. Relation entre l'allèle de <i>PopP2</i> et le phénotype (Figure 14 et Tableau 10)	39
5. DISCUSSION	42
ANNEXES	49
ABSTRACT	73

1. Introduction bibliographique

1.1. *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien:

1.1.1. Gamme d'hôtes et répartition géographique

R. solanacearum est une bactérie tellurique de la famille des Burkholderiaceae (classe des Beta-Protéobactéries) à la taxonomie complexe, capable d'infecter 250 espèces hôtes et 54 familles chez les monocotylédones et dicotylédones (Hayward 1994).

Primitivement décrite sur Solanacées (tomate, aubergine, tabac, poivron, piment, pomme de terre...) (Figure 1B), elle a également été identifiée comme agent pathogène des Musacées (bananier dessert et plantain, Heliconia), Aracées (Anthurium), Cucurbitacées mais aussi du gingembre et du mûrier.

Sa répartition est mondiale, sur toute la ceinture tropicale et subtropicale, ainsi que dans les zones tropicales d'altitude (hauts plateaux d'Afrique de l'Est, cordillère des Andes, ..). Elle émerge dans les zones tempérées (Europe, Amérique du Nord) sur pomme de terre essentiellement mais aussi sur tomate.

1.1.2. Le flétrissement bactérien : symptômes, cycle infectieux

Le symptôme caractéristique de la maladie est le flétrissement irréversible de la plante (Poussier 2000). L'intensité des symptômes et leur vitesse d'apparition sont fonction de l'hôte (âge, espèce et cultivar), du potentiel d'inoculum (qualité, quantité) et des conditions environnementales (température, humidité, type de sol ...).

Le processus infectieux débute par la pénétration du germe tellurique au niveau des racines grâce aux ouvertures naturelles (Kelman and Sequeira 1965) ou blessures. La bactérie colonise ensuite les espaces intercellulaires, puis les vaisseaux du xylème (Vasse et al. 2005) où elle se multiplie et synthétise des exopolysaccharides (EPS) et des enzymes de dégradation des parois. Ceci empêche la circulation de l'eau dans la plante et provoque donc un flétrissement des feuilles (Figure 1B). Les feuilles les plus jeunes jaunissent partiellement puis flétrissent jusqu'à la mort de la plante entière. Lors d'une infection importante, les tissus vasculaires de la tige prennent une teinte brune, et l'infestation de la tige peut être visualisée par le test de l'eau (fragment de la base de la tige placé dans un volume d'eau) avec la libération d'un exsudat bactérien blanchâtre, (Figure 1D). Sur tomate, des bourrelets et des racines adventives peuvent apparaître sur la tige, conséquence de l'accumulation d'acide indole acétique dans les cellules végétales.

La dissémination à grande échelle de *R. solanacearum* est principalement due à l'homme via l'utilisation et le transport de matériel contaminé ou lors d'interventions culturales (Figure 2). A l'échelle de la parcelle, cette bactérie tellurique se transmet également de racine à racine (Kelman and Sequeira 1965), par les eaux de ruissellement et d'irrigation, mais aussi par insectes dans le cas de la maladie de Moko (Buddenhagen and Elsasser 1962).

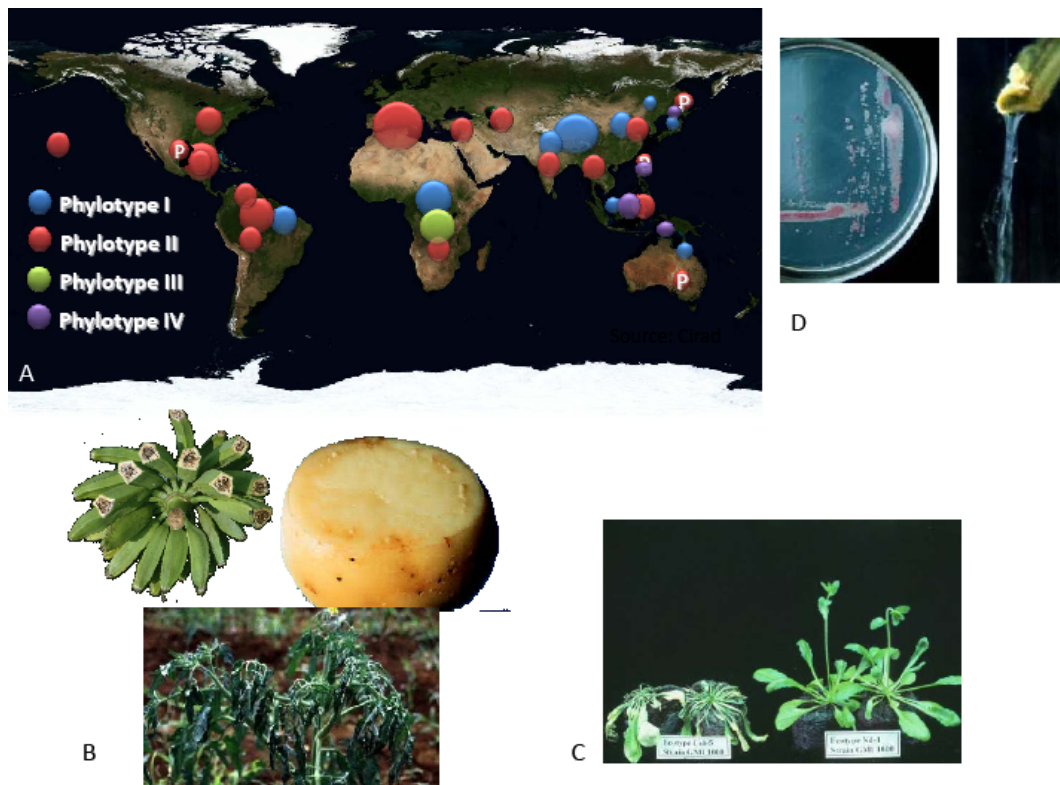


Figure 1. Répartition géographique et gamme d'hôtes de *Ralstonia solanacearum*.
A : Distribution des 4 phylotypes dans le monde ; P=souches « Brown Rot » (d'après Lebeau, 2010) ; **B** : Symptômes causés sur régime de bananier (haut gauche), pomme de terre (haut droite), tomate (bas), photos P. Prior 2005 ; **C**. Symptômes sur *Arabidopsis thaliana* (photo S. Genin) ; **D**. Colonies sur boîte (gauche) et exsudat d'une tige de tomate infectée (droite), photos P. Prior 2005

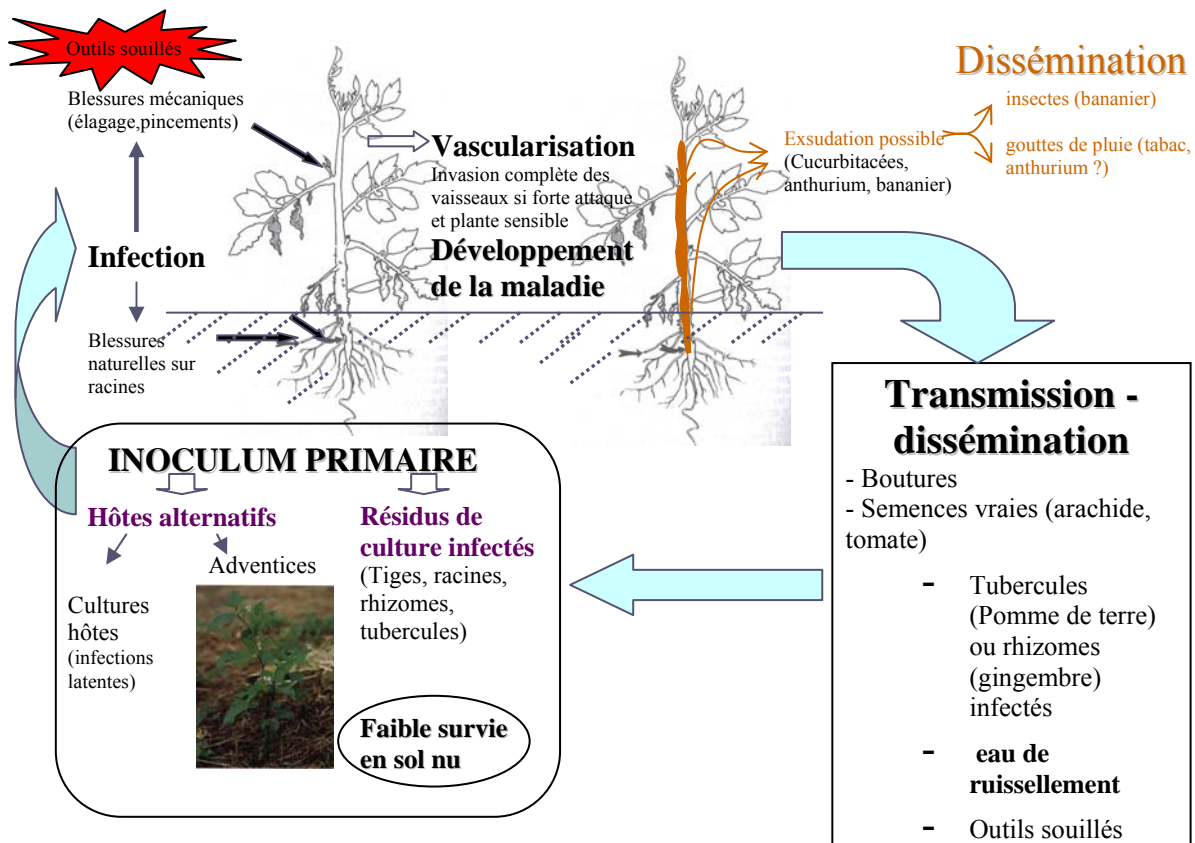


Figure 2. Cycle infectieux de *Ralstonia solanacearum* (Wicker 2004)

1.2. L'agent pathogène *Ralstonia solanacearum*

Cet organisme a été décrit pour la première fois en 1896 aux Etats-Unis par Smith en tant que *Bacillus solanacearum*. En 1914, c'est sous le nom de *Pseudomonas solanacearum* (Smith) qu'est désignée cette bactérie. Grâce à l'évolution des techniques de biologie moléculaire, cette appellation devient *Burkholderia solanacearum* en 1992 (Yabuuchi et al. 1992) et aujourd'hui *Ralstonia solanacearum*, validé en 1995 (Yabuuchi et al. 1995).

1.2.1. La structure du génome

Un génome bipartite. Le séquençage de la souche mondialement connue GMI1000 a établi que le génome de cet organisme est organisé en deux larges réplicons circulaires de 3.7 et 2.1 mégabases, respectivement le chromosome et le mégaplasmide (Salanoubat et al. 2002). Le mégaplasmide apparaît chez toutes les souches connues de *R.solanacearum* (Genin and Boucher, 2004). La plupart des gènes de ménage se trouvent sur le chromosome, tandis que le plasmide contient des gènes associés à l'adaptation à l'environnement et à la pathogénie.

Une structure en mosaïque. La bactérie contient des zones riches en bases GC disséminées sur les deux réplicons et souvent associées à des ARNt ou à des éléments génétiques mobiles (Salanoubat et al. 2002). Ceci indiquerait que ces régions ont été acquises par transfert latéral de gènes et joueraient un rôle important dans l'adaptation rapide de la bactérie aux changements environnementaux (Genin and Boucher 2004). Le génome de *R. solanacearum* contient également des régions avec des biais d'usage des codons (Alternative Codon Usage Regions, ACURs), (Guidot et al. 2007).

1.2.2. Taxonomie et phylogénie

1.2.2.1. Une classification initiale en races et biovars

R. solanacearum présente une forte variabilité phénotypique et génotypique qui a mené la communauté scientifique à la considérer comme un complexe d'espèces (Gillings and Fahy 1994).

Cinq **races** ont été définies selon des critères de pathogénicité sur leur spectre d'hôte (Figure 3):

- Race 1 : race polyphage regroupant les souches pathogènes sur la plupart des solanacées, bananiers diploïdes
- Race 2 : spécifique aux musacées, responsable de la maladie de Moko
- Race 3 : restreinte aux solanacées et capable de se développer et d'être pathogène à des températures tempérées (18-20°C) (Buddenhagen et al. 1962)
- Race 4 : pathogène du gingembre (Pegg and Moffett 1971)
- Race 5 : inféodée au mûrier (He et al. 1983)

Cependant, cette classification n'est pas représentative de la variabilité de l'agent pathogène. Une nouvelle méthode de classification a donc été développée.

La classification en **biovars** a été définie en se basant sur la capacité des isolats bactériens à utiliser et/ou oxyder trois hexose alcools: le mannitol, le sorbitol et le dulcitol et trois disaccharides : le lactose, le maltose et le cellobiose (Hayward 1964; Hayward et al. 1990). Six biovars ont donc été définis : 1, 2, 3, 4, 5 et 2T (Figure 3). Le même problème de représentativité de la variabilité de l'organisme a été rencontré.

1.2.2.2. La classification actuelle, basée sur la phylogénies de séquences : le schéma hiérarchique « phylotypes et séquévars »

A partir de 1992-1994, l'utilisation d'une nouvelle méthode d'analyse basée sur l'ADN, la RFLP (Restriction Fragment length Polymorphism) a permis d'identifier 38 génotypes multilocus séparables en deux divisions. La **division I** (Asiaticum) comprend les biovars 3, 4 et 5 et la division II (Americanum) regroupe les biovars 1, 2 et 2T. Ces travaux ont été complétés par l'analyse de séquences codant pour l'ARNr 16S et 23S, ils ont permis de mettre en évidence une autre division d'origine indonésienne (Taghavi *et al.*, 1996). Enfin, un quatrième groupe de souches africaines a été identifié par PCR, RFLP et analyse des régions *hrp* (Poussier, 2000).

La classification intraspécifique a ensuite été révisée sur la base des données d'analyse de quatre régions génomiques : ITS, *egl* (endoglucanase), *hrpB* et *mutS* ; quatre **phylotypes** ont été identifiés. Ils correspondent à des souches d'origine géographique différente (Figures 3 et 4) (Fegan and Prior, 2005). Ces phylotypes ont été divisés en 51 **séquévars**, groupes rassemblant des souches dont les séquences *egl* (gène codant pour l'endoglucanase) divergent à moins de 1%.

Le phylotype I rassemble des souches d'origine asiatique, le phylotype II d'origine américaine, le phylotype III d'origine africaine ; les souches du phylotype IV sont d'origine indonésienne. Le phylotype II comprend deux sous-groupes : le sous-cluster IIA regroupe les souches à large spectre et le IIB des souches spécialisées sur bananier (souches moko) et sur pomme de terre (souches « Brown Rot »). Ce dernier sous groupe inclue le séquévar 4 NPB (Non Pathogène sur Banane) regroupant des souches émergentes de gamme d'hôte très large, et virulentes même sur les tomates résistantes aux phylotypes I et II (Wicker et al. 2007).

Le développement récent d'un schéma MLSA-MLST (Wicker *et al.*, 2011 soumis) a amené à proposer une classification en **clades** (Figure 4), qui subdivisent certains phylotypes. Ce travail a également permis de montrer que les différents phylotypes présentaient des dynamiques évolutives différentes ; le phylotype I se distingue notamment par une forte aptitude à la recombinaison, et une expansion démographique récente et très rapide, tandis qu'à l'opposé le phylotype IIB (clades 4 et 5) a une structure de population clonale, et en faible expansion.

1.2.3. Déterminants génétiques du pouvoir pathogène

Les facteurs génétiques qui déterminent le pouvoir pathogène chez *R.solanacearum* peuvent être séparés en quatre groupes : les gènes de mobilité et chimiotactisme, les enzymes hydrolytiques, les exopolysaccharides, les effecteurs sécrétés par le système de sécrétion de type III régi par les gènes *hrp*, les gènes régulateurs à effet pléiotrope.. Ces 5 groupes interviennent à des phases différentes de la pathogénèse (Figure 5), et agissent en synergie pour certains d'entre eux.

1.2.3.1. Gènes de mobilité et tactisme

Ces gènes interviennent dans les toutes premières phases de la pathogénèse, alors que la bactérie est à l'état saprophyte dans le sol. Les gènes de mobilité, en particulier, sont spécifiquement induits par les exsudats racinaires de plantes sensibles (Clifford and Allen 2007).

Le comportement de tactisme est un composant de la fitness du pathogène, puisqu'il lui permet de s'orienter durant ses phases de vie dans le sol et l'eau. Yao et al ont démontré en particulier que les gènes de chimiotactisme (*CheA*, *CheW*) sont indispensables à la virulence

et la compétitivité des cellules bactériennes (Yao and Allen 2006).

1.2.3.2. Les systèmes de sécrétion et leurs effecteurs

Il y a six types de systèmes de sécrétion des protéines dont les principaux chez les bactéries Gram négatives sont **les types I et II** qui sécrètent des protéines dans le surnageant ou dans les espaces intercellulaires de l'hôte alors que les **types III et IV** permettent d'introduire directement les protéines ou acides nucléiques dans les cellules hôtes (Ponciano et al. 2003).

Le système de sécrétion de **type II** permet la translocation de diverses exoprotéines à travers la membrane externe de nombreuses bactéries Gram négatives. Au moins 6 protéines majeures, dont les enzymes de dégradation des parois cellulaires, transitent via ce système.

Le système de sécrétion de **type III** (T3SS) est codé par le cluster de gènes *hrp*. C'est une seringue moléculaire permettant d'injecter directement des protéines effectrices dans les cellules de la plante. Le fait que les effecteurs de type III (T3Es) partagent de nombreuses similarités avec les protéines végétales suggère que ces effecteurs agiraient directement comme agonistes ou antagonistes des composants cellulaires des plantes (Genin and Boucher 2004). Le système de sécrétion de **type IV** est le seul système permettant de transférer à la fois des protéines et des acides nucléiques.

Actuellement, 94 effecteurs de type III (T3E) distribués dans les différentes souches de *R. solanacearum* ont été répertoriés (Poueymiro and Genin 2009). Parmi eux, un certain nombre ont des fonctions bien caractérisés (effecteurs de la famille GALA (Angot et al. 2006), *avrA* et *popP1* (Liu et al. 2009)), tandis que d'autres sont encore quasi inconnus (famille SKWP, famille AWR, ..)

(Deslandes et al. 2003; Deslandes et al. 2002) se sont intéressés aux interactions entre une protéine de résistance d'*Arabidopsis thaliana* (RRS1-R) et la protéine d'avirulence PopP2. RRS1-R confère un large spectre de résistance à *R. solanacearum* via son interaction avec le T3E PopP2 et le facteur RD19. Cette interaction a lieu dans le noyau des cellules de la plante hôte. *PopP2* est donc une protéine d'avirulence directement adressée dans le noyau des cellules de l'hôte.

1.2.3.3. Les exoenzymes

Elles sont transportées via le système de sécrétion de type II. Environ 10 exoprotéines sont détectables en cultures. Les enzymes pectine-méthylestérase, les polygalacturonases et l'endoglucanase (*Egl*) jouent un rôle déterminant dans le pouvoir pathogène bien qu'aucune d'entre elles ne soit à elle seule capable de causer la maladie (Schell 2000). Les enzymes pectinolytiques (polygalacturonases) joueraient un rôle dans la nutrition de *R. solanacearum* (Tans-Kersten et al. 1998). Par ailleurs, ces enzymes activeraient le mouvement de la bactérie dans les zones riches en pectines telles que la lamelle moyenne, et les sites d'émergence des racines secondaires. L'endoglucanase semble jouer un rôle dans la vitesse et l'efficacité de la colonisation cellulaire.

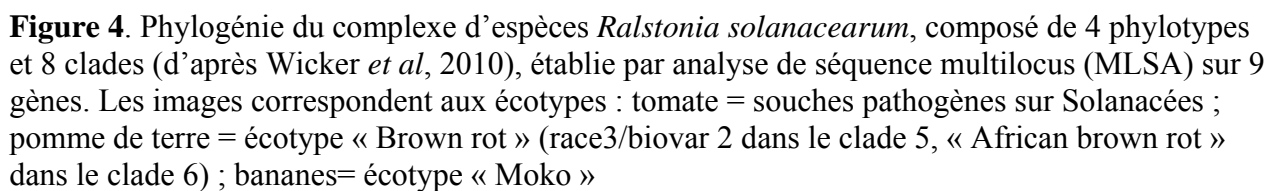
1.2.3.4. Les exopolysaccharides (EPS)

Les EPS sont uniquement produites par les souches virulentes de *R. solanacearum*. Elles s'accumulent dans les vaisseaux du xylème ce qui bloque la circulation de l'eau et des sels minéraux. Ces EPS permettraient également de faciliter la circulation de la bactérie dans la plante (Denny 2000).

1.2.3.5. Les gènes régulateurs à effet pléiotrope

Certains gènes régulateurs ont un effet pléiotrope : ils contrôlent plusieurs fonctions. Le gène *phcA* est l'un des plus importants car il contrôle la variation de phase chez *R. solanacearum*. En effet, l'activation du gène *phcA* donne un aspect muqueux et blanc-rosé aux colonies bactériennes cultivées sur milieu Kelman. Dans le cas contraire, les colonies ont un aspect rugueux et rouge (Poussier 2000) et sont affectées dans leur pouvoir pathogène mais également pour la production d'EPS et d'Egl. En effet, *phcA* peut être inactivé par transposition d'éléments insertionnels. Il contrôle (i) la production d'EPS, (ii) la production d'Egl, (iii) la production de Pectine méthyl estérase (Pme), (iv) la compétence pour transformation naturelle, (v) un système de quorum-sensing à acyl-homosérine lactone (Denny 2006). *R. solanacearum* serait sous forme rugueuse au niveau du sol et, via une mutation réversible, elle prendrait sa forme virulente lors de l'infection d'une plante hôte (Poussier et al. 2003).

Figure 3. Classification intraspécifique de *Ralstonia solanacearum*. Correspondance entre races, biovars et phylotypes (Fegan & Prior 2005)



Facteurs de virulence chez *R. solanacearum*

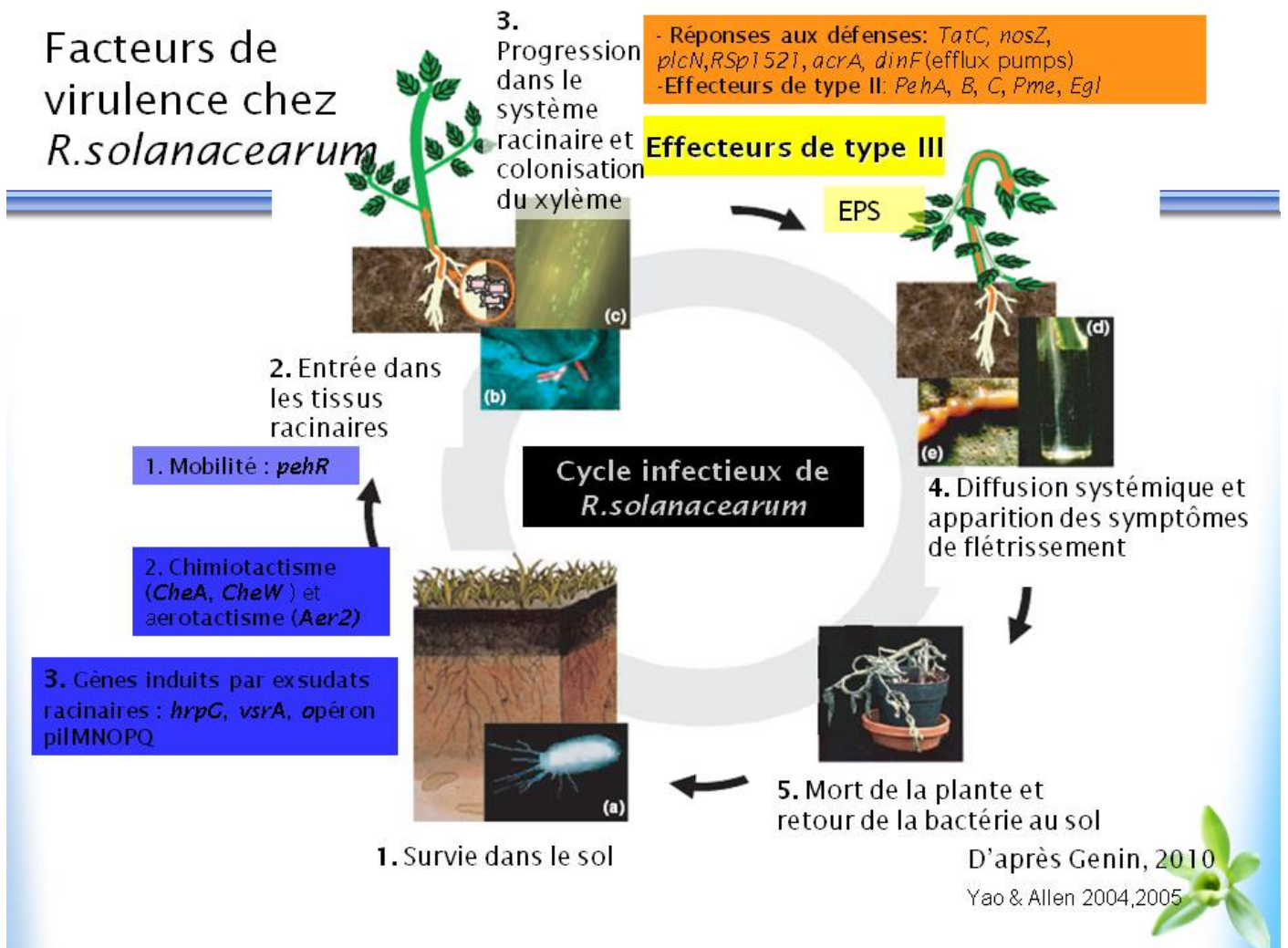


Figure 5. Cycle infectieux de *Ralstonia solanacearum*, et facteurs génétiques impliqués dans la virulence bactérienne (d'après (Genin 2010; Yao and Allen 2003; Yao and Allen 2007), synthétisé par Wicker, 2010)

1.3.Stratégies de lutte

1.3.1. La lutte réglementaire

R. solanacearum est un organisme de quarantaine de la liste A2 pour l'OEPP (Organisation Européenne et méditerranéenne pour la Protection des Plantes) et pour l'Union Européenne (UE), en particulier le phylotype IIB séquévar 1 et 2 (clade 5) qui cause la pourriture brune de la pomme de terre et le flétrissement bactérien de la tomate.

La lutte réglementaire instaurée par la norme OEPP PM 9/3 (OEPP/EPPO 2004) comporte plusieurs étapes :

- Détection après prospection, par tests ELISA, immunofluorescence et PCR spécifique
- Détermination de la distribution
- Prévention de la dispersion
- Elimination des systèmes de production

1.3.2. La lutte prophylactique

La lutte prophylactique permet une réduction de potentiel d'inoculum et des voies de pénétration. Afin de limiter l'entrée de la bactérie dans la parcelle cultivée, il faut contrôler et éliminer autant que possible les hôtes alternatifs (adventices) sensibles ou « porteurs sains » (sans symptômes) car ils permettent à la bactérie de survivre et se multiplier en l'absence de la culture-hôte. Cette lutte consiste aussi en un drainage efficace, une désinfection des outils et des bottes mais elle implique aussi de travailler d'abord dans les zones saines, puis dans les zones infestées.

Dans les parcelles contaminées, outre les mesures réglementaires prévues, il est recommandé d'arracher les plants malades, de procéder à un assèchement. L'utilisation de plants certifiés ayant fait l'objet de contrôle au champ et en laboratoire reste la meilleure garantie (Wicker, 2004).

1.3.3. La lutte culturale

Une première stratégie consiste à raisonner les rotations en évitant les successions d'espèces hôtes. Par exemple, en Martinique, il est préconisé d'éviter les rotations cucurbitacées-solanacées, ces deux familles étant hôtes de *R. solanacearum* (Wicker et al. 2009).

Une des voies les plus prometteuses consiste à utiliser des cultures assainissantes en rotation et/ou en association destinées à lutter contre *R. solanacearum*. C'est parmi les alliées que l'on trouve les espèces assainissantes les plus efficaces : l'oignon (*Allium cepa*), la cive (*Allium fistulosum*, *A. tuberosum*) et l'ail (*A. sativum*) sont reconnues pour leur caractère non-hôte, leur effet suppressif sur les populations bactériennes et leur effet suppressif sur l'incidence de la maladie (Yu 1999). Ces stratégies sont en cours de développement au CIRAD Martinique, dans l'équipe de P. Deberdt.

1.3.4. Les luttes physique et chimique

Ces luttes sont rarement utilisées à cause du coût élevé des méthodes et de la dangerosité pour l'utilisateur et l'environnement. La solarisation consiste en une désinfection thermique du sol par recouvrement avec un film plastique transparent. Des traitements de fumigation peuvent aussi être utilisés mais de nombreux produits sont maintenant interdits. L'acide paracétique et le dioxyde de chlore peuvent aussi être utilisés pour désinfecter les eaux d'irrigation (Wicker, 2004).

1.3.5. La lutte biologique

Cette lutte consiste en général en l'utilisation de bactéries antagonistes ou de souches avirulentes de *R. solanacearum*. Différents microorganismes comme *Trichoderma sp.* ou *Bacillus sp.* peuvent être utilisés pour leurs propriétés d'inhibition de la croissance de *R. solanacearum*. Cependant elles ne sont pas forcément adaptées à la même niche écologique et n'ont pas la même capacité de colonisation de la rhizosphère. Les mutants avirulents de *R. solanacearum* présentent ces caractéristiques et peuvent donc induire des phénomènes de résistance chez la plante, cependant ils sont en général moins compétitifs que les souches virulentes (Poussier, 2000).

1.3.6. La lutte génétique : sélection et utilisation de variétés résistantes

L'utilisation de cultivars résistants est la méthode de lutte qui est potentiellement la plus efficace contre le flétrissement bactérien. Depuis des décennies, les sélectionneurs ont identifié et utilisé des sources de résistance (croisements, hybrides) intra ou interspécifiques pour créer des cultivars de tomate aubergine et piment résistants au flétrissement bactérien. Cependant, la recherche de variétés résistantes est rendue difficile par l'existence de fortes interactions génotype-milieu. Celles-ci sont causées par la forte variabilité de l'agent pathogène d'une part et par l'influence des conditions environnementales sur l'expression de la résistance d'autre part. Surmonter les problèmes de variation de l'expression de la résistance est donc un nouveau challenge rendu indispensable par le commerce international de cultivars résistants. L'instabilité de la résistance peut être expliquée par (Lebeau 2010):

- les connaissances insuffisantes des mécanismes impliqués dans les différents phénotypes de résistance (résistance totale, infections latentes). En effet, une plante pouvant être colonisée par *R. solanacearum* sans développer de symptômes peut être responsable de la multiplication et de la dispersion de la bactérie.
- les connaissances insuffisantes des caractéristiques génétiques des souches utilisées dans les programmes de sélection variétale.
- les interactions méconnues entre les facteurs génétiques impliqués dans la résistance de l'hôte et la pathogénicité de la bactérie.

Des programmes de sélection ont été lancés pour la résistance au flétrissement bactérien chez les Solanacées maraîchères, la pomme de terre, le tabac, le bananier, l'arachide. Dans toutes ces cultures, la résistance est mal caractérisée génétiquement, toujours considérée comme polygénique et à effet partiel. Dans la suite du rapport, nous nous focaliserons sur la résistance des Solanacées à graines (tomate, aubergine, piment) à *Ralstonia solanacearum*.

1.4. Les interactions plante / *R. solanacearum*

1.4.1. Génétique de la résistance d' *Arabidopsis thaliana*

C'est sur le pathosystème *Ralstonia solanacearum*/*Arabidopsis thaliana* qu'a été établie et validée la première et unique interaction gène-pour-gène connue, entre le gène de résistance RRS1-R, identifié dans l'écotype Nd-1, et l'effecteur bactérien d'avirulence *popP2* (Deslandes et al 2002). Dans ce modèle, l'effecteur *popP2* interagit avec le facteur végétal RD19, et ce complexe est reconnu par la protéine RRS1-R (Figure 6).

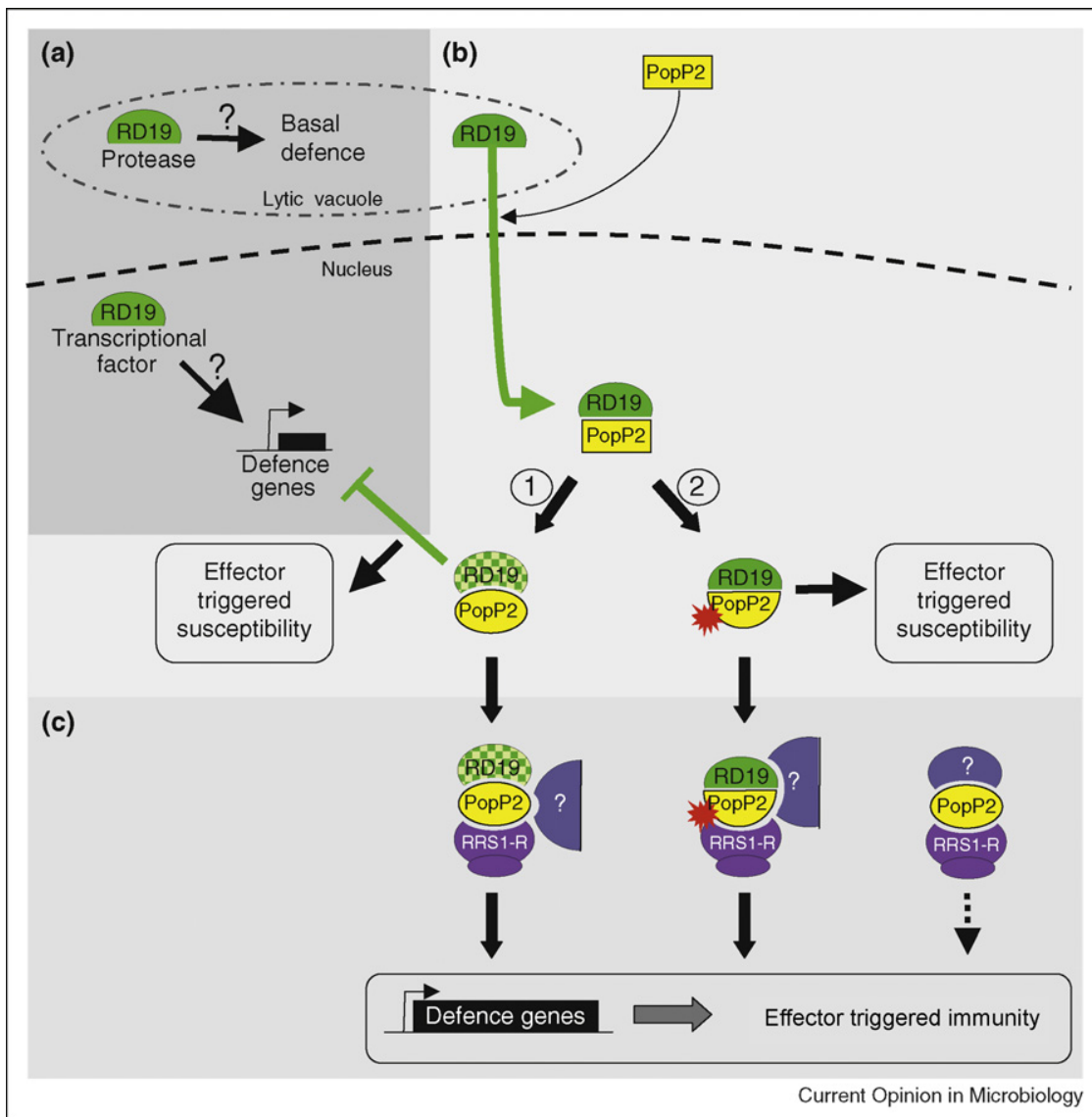


Figure 6. Modèle d'interaction de l'effecteur bactérien PopP2 avec le gène RRS1-R de l'arabette. (a) RD19, une cible de PopP2, jouerait un rôle dans l'induction des réactions de défense, en tant que protéase vacuolaire et/ou régulateur de transcription dans le noyau (Bernoux et al. 2008). (b) **Dans une plante sensible:** PopP2 induit la relocalisation de son partenaire interacteur RD19 vers le noyau végétal, où il interagit avec les deux protéines. Dans un premier modèle (1), PopP2 inhibe RD19, entraînant une perte d'expression des gènes de défense et la sensibilité. Dans un second modèle (2), PopP2 nécessite une modification RD19-dépendante pour exprimer sa fonction de virulence. (c) **Dans une plante résistante:** la protéine de résistance RRS1-R perçoit l'interaction PopP2–RD19. Dans le premier modèle, l'altération de RD19 par PopP2 forme un complexe protéique reconnu par RRS1-R. Dans le second modèle, RRS1-R détecte la modification de PopP2. Dans les deux cas, l'évènement de reconnaissance de PopP2/RD19 par RRS1-R active les gènes de défense via son domaine WRKY, menant à une immunité déclenchée par effecteur (effector-triggered immunity, ou ETI). Comme la perte de résistance en l'absence de RD19 n'est que partielle, il est probable que d'autres facteurs végétaux participent à la résistance médiée par RRS1-R. Ces composants (symbolisés en gris et point d'interrogation) pourraient être des interacteurs additionnels de PopP2, partie d'un complexe multiprotéique avec RRS1-R. Source : Poueymiro & Genin (2009)

1.4.2. Génétique de la résistance chez les Solanacées

1.4.2.1. Chez la tomate

La résistance au flétrissement bactérien est de type polygénique, et à effet partiel; plusieurs QTL (Quantitative Trait Loci) ont été localisés sur différents chromosomes de la tomate. Chez Hawaii 7996, le QTL majeur, contrôlant des souches de différents phylotypes, se trouve sur le chromosome 6, tandis que d'autres QTLs phylotype-spécifiques se trouvent sur les chromosomes 3, 4 et 12 (Carmeille et al. 2006; Thoquet et al. 1996; Wang et al. 2000)

1.4.2.2. Chez le piment

La résistance au flétrissement bactérien (souche de phylotype IIA) est contrôlée par 2 à 5 facteurs génétiques sur une population d'haploïdes doublés obtenue à partir du croisement intraspecific PM687 (résistant)x Yolo Wonder (sensible) (Lafortune et al. 2005). Au sein de cette population les QTLs sont en fait à effets faibles, additifs et épistatiques, sur les chromosomes P2, P6, P9, P10, P11. La résistance du cultivar CM334 au phylotype I (souche RUN0244) est en revanche contrôlée par deux QTLs majeurs portés par le chromosome P4, et par des QTLs mineurs à effet additifs et épistatiques sur les chromosomes 1, 9 et 10 (Mahbou Somo Toukam 2009).

1.4.2.3. Chez l'aubergine

Plusieurs travaux de génétique de résistance ont été publiés, mais sans cartographier le/les QTLs en question, et sans information pertinente sur le statut phylogénétique des souches de *R. solanacearum* contrôlées.

Les travaux de thèse d'Aurore LEBEAU ont permis d'identifier un gène majeur (*ERs1*) dans une population de lignées recombinantes (RILs) issue de l'accèsion résistante AG91-25. Ce gène est majeur dominant, et contrôle totalement 3 souches de phylotype I. IL est en revanche contourné par une souche taiwanaise de phylotype I, PSS4 (Lebeau et al 2011, soumis à Theoretical and Applied Genetics). Par ailleurs, la carte génétique de référence de l'aubergine a été construite par l'équipe de S. Doganlar et A Frary, sur une population issue du croisement MM195 (*S. aethiopicum*) x MM738 (*S. melongena*).

Cette carte a plusieurs intérêts :

- ⇒ 12 LG identifiés
- ⇒ Marqueurs ancre pour synténie avec tomate

1.4.3. Typologies d'interactions *R.solanacearum* / Solanacées à graines : pathoprofils et pathotypes

Au cours de sa thèse, A. LEBEAU a formalisé les différents profils d'interactions entre phylotypes de *R.solanacearum* et Solanacées à graines, en inoculant 13 souches de phylotype I, II et III (core-RS2) sur une core-collection de 30 accessions d'aubergine, tomate et piment (core-TEP, 10 cv par espèce), choisies selon leurs caractéristiques de résistance et/ou leur origines géographiques. Les plus hauts niveaux de résistance ont été observés chez l'aubergine, avec plusieurs cas de résistance totale (0 flétrissement ET 0 colonisation), tandis que la tomate est plutôt caractérisée par de la résistance partielle, et le piment par de nombreux phénotypes de « tolérance » (colonisation bactérienne sans symptômes).

Six pathoprofils (a à f), que l'on peut définir comme des profils d'interaction inter-espèce, ont été identifiés (Figure 7) , qui ne sont pas corrélés à la position phylogénétique

des souches (Lebeau et al. 2011) ; les souches de phylotype I se placent ainsi dans 3 pathoprofils (a, d, e). Le pathoprofil f (virulent et très agressif sur toutes les lignées sauf E2, E4 et E5) Pour chaque espèce séparément, des pathotypes intra-espèce ont aussi été définis : 5 chez la tomate, 6 chez l'aubergine, 3 chez le piment.

Ce grand test de criblage a également permis d'identifier un certain nombre de couples souche*variété présentant des interactions incompatibles (ou résistance totale), ce qui suggère l'existence d'interactions gène-pour-gène entre *R.solanacearum* et aubergine, plus particulièrement les accessions E1, E4, E6, ainsi qu'entre *R.solanacearum* et piment (P6 et P8)

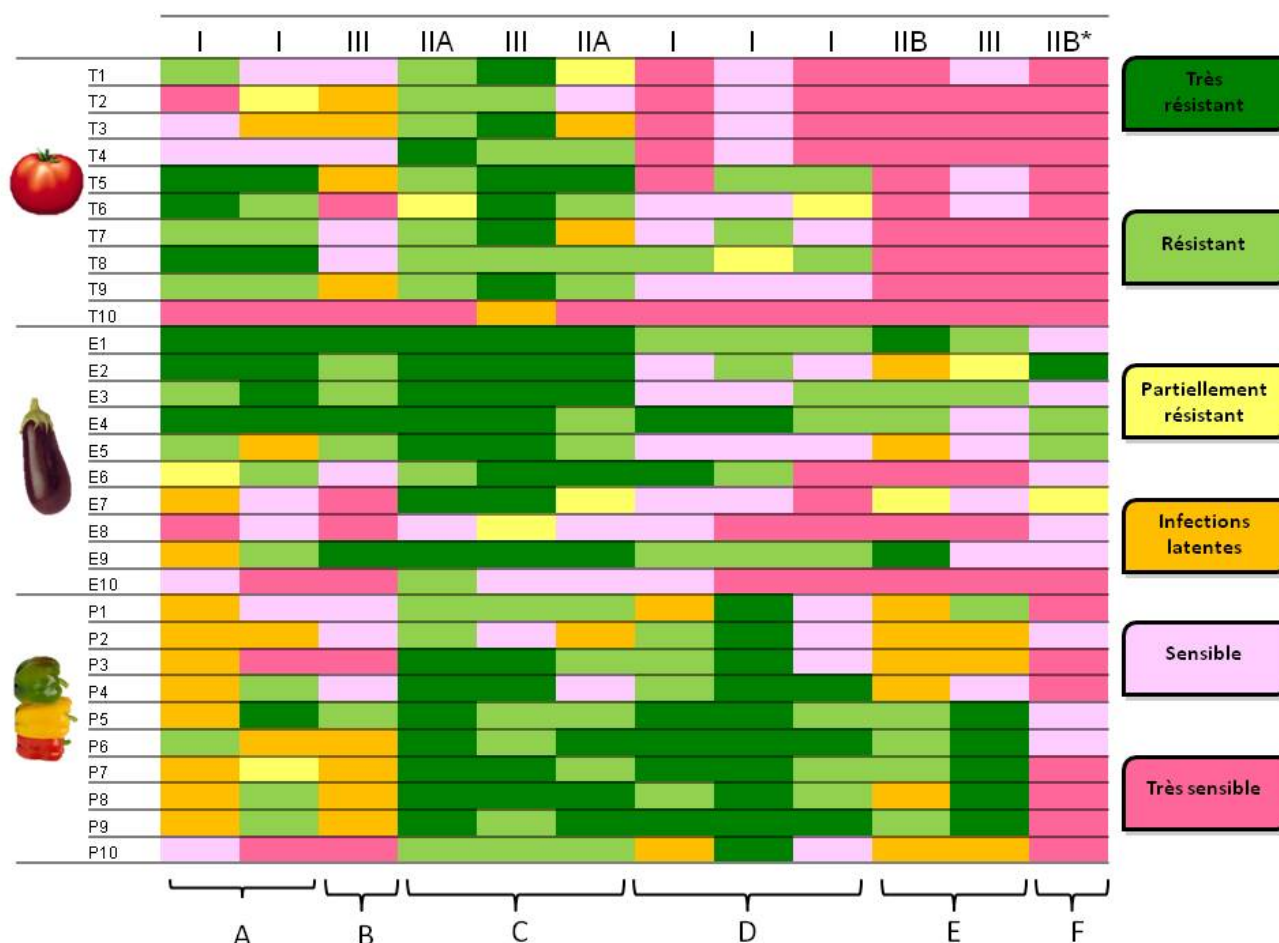


Figure 7. Tableau récapitulatif des interactions core-RS2 (colonnes) x core-TEP (lignes), et pathoprofils distingués (A à F). Les souches de *R.solanacearum* sont désignées par leur phylotype, et les accessions de tomate (T), aubergine (E), et piment (P) par leur code (Lebeau 2010; Lebeau et al. 2011)

2. Problématique de l'étude

2.1. Contexte

Cette étude porte sur les facteurs génétiques déterminant le niveau et la spécificité de résistance de l'aubergine à *R.solanacearum*.

Les études menées durant la thèse d'A. LEBEAU ont permis d'établir que les plus hauts niveaux de résistance au flétrissement bactérien sont observés chez l'aubergine. Il a d'ailleurs été démontré que la résistance de l'aubergine AG91-25 aux souches de phylotype I était conférée par un gène majeur dominant (*ERs1*), associé à un QTL mineur. Ce gène majeur est lui-même contourné par certaines souches de phylotype I, dont PSS4 (Taïwan). Il reste à découvrir si ce gène majeur est aussi présent dans d'autres accessions d'aubergine, ou est spécifiquement porté par AG91-25. Ce résultat amène aussi à rechercher le gène bactérien d'avirulence interagissant avec *ERs1*.

Parallèlement, la recherche de déterminants génétiques de la virulence de *R.solanacearum* sur aubergine, tomate et piment, par une approche de génétique d'association, a permis d'identifier une dizaine d'effecteurs de type III très associés à la virulence et avirulence sur aubergine et tomate. Parmi eux, l'effecteur bactérien popP2, déjà connu comme effecteur d'avirulence sur le pathosystème GMI1000/*Arabidopsis thaliana* Nd1, apparaît hautement associé à l'avirulence sur l'aubergine AG91-25 (F. Pensec, rapport M2 2010). Cependant ce gène est distribué dans les populations bactériennes sous au moins 2 formes alléliques.

2.2. Objectifs et démarche

Ce stage étudie trois aspects de la résistance de l'aubergine à *Ralstonia solanacearum*.

Dans un premier temps, il s'agit d'étudier la spécificité de la résistance chez *Solanum linneanum* (E7), en cartographiant les facteurs de résistance agissant sur deux souches de phylotype I ayant des profils différents en virulence et agressivité : GMI1000 et PSS4. Au cours de ce stage, une population de lignées recombinantes issues du croisement MM195 (E7, Résistante) x MM738 (E8, Sensible) a donc été phénotypée en serre pour sa résistance à GMI1000 ; les phénotypages de résistance à PSS4, et les génotypages ayant déjà été préalablement menés.

Dans un deuxième temps, il s'agit de comparer les facteurs de résistance identifiés chez MM195 (E7) à ceux déjà connus et cartographiés chez AG91-25 (E6). , par la confrontations des cartes génétiques E6xE8 et E7xE8.

Dans un troisième temps, nous allons étudier la réponse phénotypique de lignées porteuses du gène *ERs1* à plusieurs souches de *R.solanacearum* porteuses des différentes formes alléliques de popP2, pour tester l'hypothèse d'une relation gène pour gène *ERs1*/popP2 (R/Avr). Cette étude repose sur un test d'injection de cellules bactériennes sur feuille pour l'induction d'une réaction de type hypersensible (HR).

3. Matériel et méthodes

3.1. Matériel végétal

Pour réaliser l'étude de cartographie génétique de la résistance au flétrissement bactérien, nous avons utilisé la population F2:3 obtenue à partir du croisement interspécifique *S. melongena* MM738 (E8) x *S. linneanum* MM195 (E7) et qui a été utilisée pour établir la première carte de référence de l'aubergine (Doganlar et al. 2002), par la suite complétée par (Tanksley et al. 2009). Une population constituée de 60 lignées F3 obtenues après autofécondation des individus F2 à l'INRA d'Avignon, Montfavet, a été utilisée pour réaliser les tests de résistance à la Réunion. Originaire d'Afrique du Sud, le parent résistant MM195 est une accession sauvage à épines ; il porte des fruits de petite taille, ronds, striés et verts. MM738 est une variété commerciale cultivée sans épine qui produit de larges fruits oblongs, sans stries et violets (Doganlar et al. 2002) (Figure 8). Outre les deux parents, les générations F1, F2 et les deux backcross ont également été testés, ainsi que les témoins suivants :

- témoin sensible : *S. melongena* MM136 (E10) (cv. 'Florida market')
- témoins résistants :
 - *S. melongena* MM853 (E1) (cv. 'Dingras multiple purple')
 - *S. melongena* MM152 (E3) (cv. 'Ceylan SM164')
 - *S. melongena* MM960 (E6) ('AG91-25')

Pour la caractérisation phénotypique de l'interaction *ERs1/PopP2*, nous avons utilisé les accessions E1, E3, E6, et également E4 (*S. melongena* EG203, cv. 'Surya') pour la réalisation du test préliminaire, destiné à mettre au point la méthodologie d'injection de la bactérie sur feuille.

La caractérisation phénotypique proprement dite de l'interaction *ERs1/popP2* a été réalisée sur une gamme de 8 lignées fixées de la population de lignées recombinantes (RILs) issues du croisement E8 x E6. Ces lignées ont été choisies comme suit :

- (i) lignées « porteuses du gène *ERs1* » (*ERs1*+), possédant l'allèle « MM960 » (résistant) pour les marqueurs flanquant le locus *ERs1*, ET phénotypées comme totalement résistantes (0 flétrissement et 0 colonisation) aux 3 souches de phylotype I testées (GMI1000, PSS366, CMR134) (Lebeau 2010) ; codes = G020, G043, G244, G291 ;
- (ii) lignées « sans le gène *ERs1* » (*ERs1*-), possédant l'allèle « MM738 » (sensible) pour au moins un marqueur proche du locus du gène *ERs1*, ET phénotypées comme totalement sensibles (100% de flétrissement et de colonisation) ; codes = G074, G136, G360.

Les lignées MM134 et MM127, parents de la lignée AG91-25 (E6), ont été ajoutées comme témoins (Tableau 1).

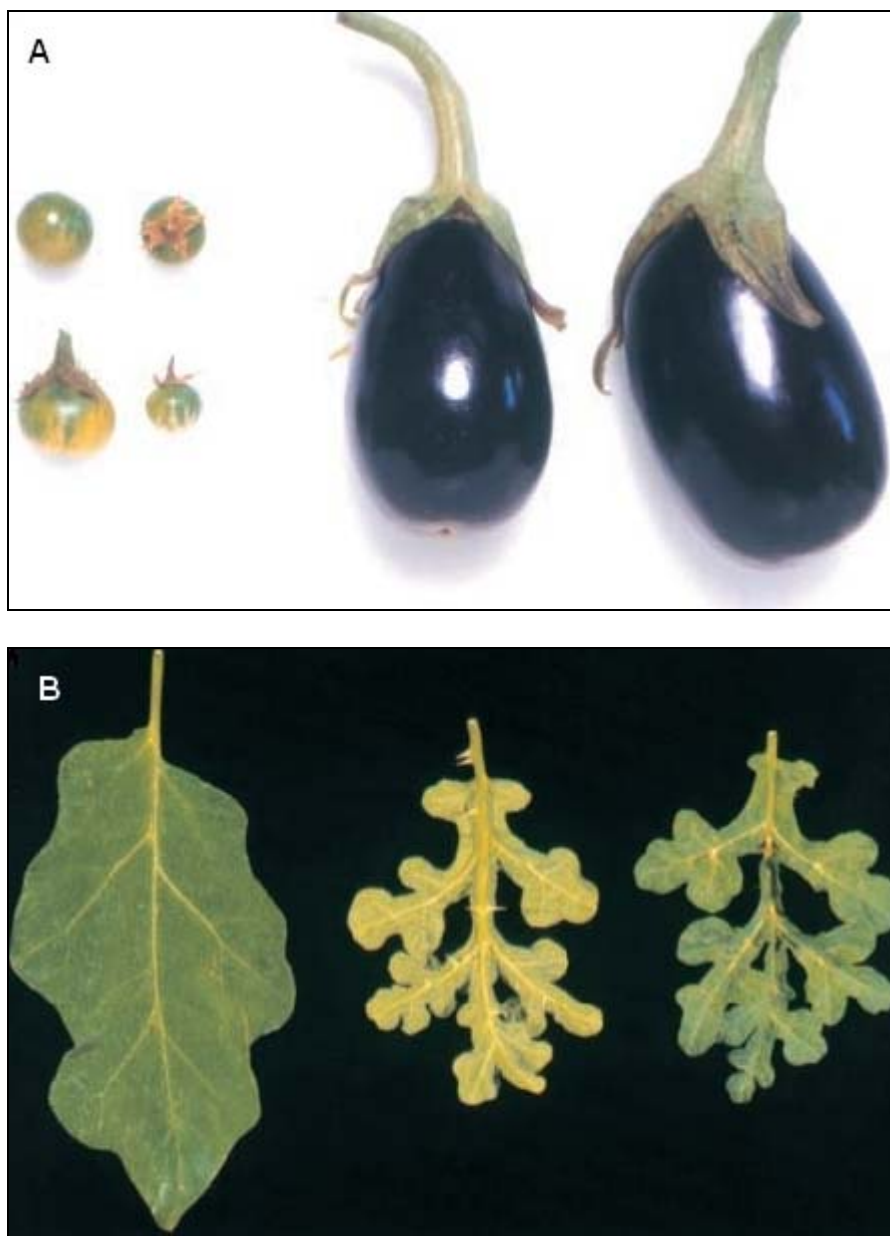


Figure 8. Phénotype des fruits et de feuilles des lignées parentales.
 (A) Fruits de *S. linneanum* MM195 (gauche) et de *S. melongena* MM738 (droite) ;
 (B) Feuilles de *S. melongena* MM738 (gauche) et de *S. linneanum* MM195 (droite).

Tableau 1. Profil génétique des accessions utilisées pour le test d'hypersensibilité à des souches de *Ralstonia solanacearum*.

Accessions	MM134	MM127	E6	E7	G020	G043	G244	G291	E8	G074	G136	G360
<i>ERs1</i>	I	I	+	I	+	+	+	+	-	-	-	-

Légende :

I= Inconnu, + = présence de *ERs1*, - = absence de *ERs1*

3.2. Souches bactériennes

La recherche de facteurs de résistance chez l'aubergine a été menée avec deux souches du phylotype I choisies pour leur degré d'agressivité différent sur les parents des F3 : PSS4 (RUN157) et GMI1000 (RUN54), issues de la Core-Rs2 (Lebeau et al. 2011) (tableau 2). Pour le test préliminaire de HR, nous avons utilisé les souches PSS4 et GMI1000, mais également RUN145 et RUN36, qui ont un profil d'agressivité connu, afin de réaliser un étalonnage. Pour le test proprement dit, des souches de *Ralstonia solanacearum* appartenant aux phylotypes I, II et III ont été sélectionnées en fonction des formes alléliques de *PopP2* qu'elles contiennent (tableau 3). La souche indonésienne To10 (RUN969, phylotype I), bien que de répertoire d'effecteurs inconnu, a également été testée car elle contourne le gène *ERsI* (T. Jaunet, com. Personnelle 2010).

Tableau 2. Descriptif des souches utilisées pour l'identification et la cartographie de facteurs de résistance chez E7.

Souche	PSS4	GMI1000
Phylotype (origine)	I (Taïwan)	I (Guyane)
Sequevar	15	18
<i>PopP2</i>	-	Allèle 1
Génome	Non séquencé	Séquencé

Tableau 3. Formes alléliques de *PopP2* caractéristiques des souches *Ralstonia solanacearum* utilisées pour le test HR.

PHYLOTYPE I				PHYLOTYPE II			PHYLOTYPE III		
Allèle 1	Allèle 3	Allèle -	inconnue	Allèle 1	Allèle 3	Allèle -	Allèle 1	Allèle 3	Allèle -
RUN 54	RUN 155	RUN 157	RUN 969	RUN 919	RUN 928	RUN 147	RUN 523	RUN 145	RUN 913

Légende : Allèle 1 = 982 bp ; allèle 3 = 950 bp ; - = absence

Remarque : La souche To10 (RUN969, phylotype I), bien que de répertoire d'effecteurs inconnu, a également été testée car elle contourne le gène *ERsI* (T. Jaunet, com. personnelle 2010).

3.3. Cartographie de la résistance au flétrissement bactérien sur la population F2:3[MM738 x MM195]

3.3.1. Etablissement de la carte génétique

Une carte génétique a été bâtie à l'aide de marqueurs AFLP uniquement, ceux-ci ayant été produits par la société Keygene dans le cadre d'un contrat avec l'INRA d'Avignon et l'Université d'Izmir. La technologie utilisée par Keygene a permis de coder ces marqueurs comme des marqueurs co-dominants (distinction des hétérozygotes). Une deuxième carte a été bâtie en intégrant ces marqueurs AFLP à la carte de référence existante constituée principalement de marqueurs RFLP et COSII (Doganlar et al. 2002; Tanksley et al. 2009).

Le logiciel JoinMap a été utilisé pour construire les groupes de liaison et le logiciel MapChart pour la comparaison avec la carte de référence. Un LOD seuil de 4 a été retenu pour déclarer 2 locus indépendants (non liés).

3.3.2. Tests de résistance des lignées F3

3.3.2.1. Préparation de la souche bactérienne et méthode d'inoculation

L'inoculum bactérien de GMI1000 a été ajusté à une DO de 0,102, soit une concentration finale de $1,02 \cdot 10^8 \text{ cfu.mL}^{-1}$. Il a été appliqué à travers le système de fertirrigation de manière homogène 15 jours après le repiquage des plants sous tunnel. Une scarification préliminaire des racines a été effectuée de façon à faciliter l'entrée de la bactérie dans les plantes et éviter qu'aucune n'échappe à l'inoculation.

3.3.2.2. Dispositif expérimental

Chaque essai est constitué de deux répétitions correspondant à deux tunnels selon un dispositif en randomisation totale (protocole généré sous le logiciel R, fonction *sample* (R 2010). Chaque tunnel comporte 5 doubles rangées de 156 pots par ligne. Les témoins non infestés des parents E7 et E8 sont isolés sur une sixième double rangée située en périphérie de la serre afin de limiter les contaminations. Un dosatron et deux réseaux par serre pilotés par un programmeur assurent la fertirrigation.

Pour la souche PSS4, l'essai a été répété à deux saisons différentes : en été austral (Décembre 2009-Janvier 2010) et à la fin de l'hiver austral (Août-Septembre 2010). Pour la souche GMI1000, un seul essai a été mené en Mai-Juin 2011.

3.3.2.3. Notation des symptômes et variables estimées

Une échelle de notation visuelle des symptômes de 0 (pas de flétrissement) à 4 (plante totalement flétrie) a été utilisée. Pour chaque lignée F3, nous avons ainsi estimé les variables incidence de la maladie (% de plants présentant des symptômes de flétrissement), sévérité (note moyenne des plants présentant du flétrissement), score (note moyenne de tous les plants présentant ou non du flétrissement) (Tableau 4). L'indice de colonisation tel que décrit ci-dessous (% de plants colonisés par la bactérie présentant ou non des symptômes de flétrissement) a été estimé à la fin de l'essai après prélèvement et étalement sur boîtes de Pétri. Cet indice de Colonisation (IC) permet de tenir compte des infections latentes (plantes asymptomatiques mais colonisées par la bactérie).

$$T_{col} = \frac{N_c}{N_{total}}$$

T_{col} : Taux de colonisation
 N_c : Nombre de plants flétris ou colonisés sans symptômes
 N_{total} : Nombre de plants total

L'aire sous la courbe de progression de la maladie, ou AUDPC (Area under the Disease Progression Curve) a pu être estimée également pour les variables score, incidence et sévérité pour chacune des lignées, selon la formule:

$$AUDPC = \sum_{i=3}^{28} ((T_{flet\ i} + T_{flet\ i-1})/2) (t_i - t_{i-1})$$

$T_{flet\ i}$: Taux de flétrissement à la date i
 t_i prend l'ensemble des valeurs des dates de notation
 t_{i-1} correspond à la date précédant i ,

3.3.2.4. Analyse statistique des données

Une ANOVA a été réalisée pour chaque saison individuelle ainsi qu'une analyse multi-saison pour PSS4 en utilisant le logiciel R et selon le modèle linéaire classique en considérant tous les effets comme fixes. Les valeurs estimées des variances génotypiques, résiduelles et de l'interaction génotype x saison ont permis d'estimer les héritabilités au sens large au niveau du dispositif. Des analyses de corrélations entre les différentes variables obtenues ont été réalisées (coefficient de Pearson).

3.3.3. Recherche de QTLs

Nous avons utilisé le logiciel PLABQTL (Utz and Melchinger, 1996) pour détecter les QTLs associés aux différents traits de résistance. La méthode de cartographie d'intervalle simple (SIM) et composite (CIM) a été utilisée telle que décrite dans le logiciel. La régression multiple utilisée par PLABQTL (Haley and Knott, 1992) présente l'avantage d'être assez robuste avec des données ayant des résidus non distribués normalement. La méthode CIM utilise une gamme de marqueurs obtenus après sélection pas à pas (stepwise regression), cela de façon à prendre en compte les effets des autres locus associés au trait étudié (Jiang and Zeng, 1995 ; Zeng, 1994). Un LOD seuil de 5, pour un risque α de 1%, a été choisi pour déclarer un QTL significatif, cela en se basant sur des tests de permutation (Doerge and Churchill, 1996) et des tests de χ^2 de Bonferroni (Zeng, 1994) proposés par le logiciel. La position d'un QTL sur un groupe de liaison donné a été estimé au point où le LOD score était maximum, l'intervalle de confiance étant obtenu en considérant la zone bornée par + ou - 1 la valeur du pic de LOD. La proportion de la variance phénotypique expliquée par un QTL donné est définie comme le carré du coefficient de corrélation partiel (R^2). Elle tient compte des valeurs d'additivité et de dominance estimées pour le QTL donné. La proportion globale de la variance phénotypique expliquée par tous les QTLs détectés pour un trait donné (Total R^2) est estimée par le coefficient de détermination ajusté obtenu selon un modèle de régression multiple prenant en compte les effets d'additivité et de dominance (modèle D du logiciel).

Tableau 4. Valeurs attribuées aux variables score, incidence et sévérité à partir de l'échelle de notation.

Notations	Score	Incidence	Sévérité
0	0	0	-
1	1	1	1
2	2		2
3	3		3
4	4		4



Figure 9. Echelle utilisée pour la caractérisation des symptômes lors du test préliminaire. Les notes sont indiquées en haut à gauche de chaque photo, symptômes d'intensité croissante de la gauche vers la droite.

FEUILLE 1			
RUN913 (III)			
RUN54 (I)	RUN928 (II)		
		FEUILLE 2	
		RUN919 (II)	
		RUN145 (III)	RUN155 (I)
FEUILLE 3			
RUN157 (I)			
RUN523 (III)	RUN147 (II)		
		FEUILLE 4	
		RUN 969 (I)	
		TRIS	

Figure 10. Répartition des souches sur un plant donné, les trois phylotypes sont représentés sur chaque feuille.

3.4. Caractérisation phénotypique de l'interaction *ERs1*/PopP2

Les essais ont tous été menés en chambre climatique réglée pour une photopériode de 12h de jour, thermopériode de 30°C jour / 25°C nuit, 90% d'humidité relative.

3.4.1. Réalisation d'un test préliminaire sur les lignées E1, E4 et E6

Dans ce test, les souches RUN54, RUN157, RUN145 et RUN36 ont été inoculés (10^8 CFU.mL⁻¹) par infiltration en face inférieure de feuille, sur des jeunes plants transplantés en pot de 1L.

Pour estimer la variabilité de réponse intra-plante et inter-plante pour une même accession, les 4 souches ont été inoculées sur la même feuille, à raison de 3 feuilles par plant, et 4 plants par accession.

Les observations ont été ensuite menées à 24 et 48h après inoculation ; la caractérisation phénotypique des réactions a été suivie selon une échelle sommaire (Figure 9) :

0 = aucun symptôme,

1 = jaunissement,

2 = nécrose et halo chlorotique, caractéristique d'une HR.

3.4.2. Etude de HR sur les 13 lignées d'aubergine inoculées par les 10 souches

L'essai préliminaire a permis de choisir la dose d'inoculum, le nombre de plants et de feuilles à inoculer.

3.4.2.1. Inoculation et suivi des symptômes

L'inoculation a été réalisée sur trois plants adultes (*P1*, *P2*, *P3*) par variété, dont certains commençaient à fleurir. Pour un plant donné, on réalise 11 injections correspondant aux 10 souches et au contrôle (TRIS) réparties sur 4 feuilles selon le plan représenté sur la figure 10. Le plan des souches inoculées tient compte des phylotypes et des allèles (uniquement pour la feuille 1). Les trois phylotypes sont présents sur chaque feuille de façon à identifier les souches isolées sur les échantillons prélevés ultérieurement.

Les symptômes ont ensuite été évalués à deux dates de notation : 48 h et 72h après inoculation. Compte tenu de la diversité des symptômes, l'échelle du test préliminaire n'était plus adaptée. Nous avons donc choisi de formaliser les phénotypes observés sur feuille à l'aide d'une échelle de notation à 10 notes (Figure 11), inspirée de l'échelle de chlorose-nécrose développée par (Wroblewski et al. 2009).











	0	Aucun symptôme
	1	Chlorose
	2	Chlorose sévère
	3	Chlorose + ou – sévère accompagnée de brunissement localisé au niveau des nervures
	4	Chlorose + ou – sévère accompagnée de brunissement localisé au niveau des nervures sur la face supérieure et de brunissement total sur la face inférieure
	5	Chlorose + ou – sévère accompagnée de brunissement généralisé (une ou deux faces)
	6	Chlorose accompagnée d'un ou deux spots nécrotiques
	7	Chlorose + effondrement des tissus + présence éventuelle de brunissement ou de nécrose
	8	Nécrose
	9	Nécrose sévère

Figure 11. Phénotypes chlorotiques et nécrotiques : échelle de notation

3.4.2.2. Estimation de la colonisation des feuilles

Une HR réelle bloque le pathogène à l'endroit où il a pénétré dans la plante. Pour valider le lien entre symptômes de nécrose et HR, un prélèvement à proximité de chaque zone d'injection est effectué 5 jours après l'inoculation.

Chaque échantillon réalisé à l'aide d'un emporte-pièce métallique de 1 cm de diamètre est dilacéré dans 5 mL de TRIS. Puis chaque suspension est étalée sur une boîte de Petri (50 µL/boîte) selon la technique des trois secteurs, sur milieu Séqueira modifié (Poussier 2000), et les boîtes sont incubées durant 48h à 28°C. La présence de colonies morphologiquement typiques de *Ralstonia solanacearum* est notée sur chaque secteur, puis traduite en classe de colonisation (Tableau 5).

En raison de la présence de Sclerotinia sur G074-P3 et du mauvais état des feuilles, ce plant n'a pas pu être analysé pour la colonisation.

3.4.2.3. Typage moléculaire des colonies réisolées, par PCR multiplex « Phylotypes » (Fegan and Prior 2005)

Pour vérifier que les colonies ré isolées de feuille sont bien celles qui ont été inoculées à proximité, chaque colonie est typée par multiplex-PCR (Fegan and Prior 2005). Les colonies sont repiquées sur milieu Kelman et incubées 24 h à 28°C, afin de travailler sur des cultures jeunes, en phase exponentielle de croissance, et limiter ainsi la présence d'inhibiteurs de PCR tels que les exopolysaccharides.

Deux PCR sont réalisées respectivement à partir d'une colonie et à partir d'un pool de quatre colonies par échantillon, mises en suspension dans 500µL d'eau ultrapure, afin d'augmenter les chances de détecter la présence de plusieurs phylotypes.

Les amorces (Tableau 6), le protocole pour la réalisation du MIX et de la PCR est détaillé en annexe. Les gels PCR sont interprétés tel que présenté sur la figure 12.

3.4.2.4. Analyse des données

Les profils de note d'une part, profils de colonisation d'autre part, ont été analysés séparément à chaque date par une AFCM, ainsi que par une classification hiérarchique ascendante (distance de Manhattan, construction de l'arbre suivant le critère de Ward (package **cluster** et **ade4** du logiciel R (R 2010)).

Par ailleurs, nous avons également évalué les effets des facteurs « phylotype » et « allèle de PopP2 » sur les phénotypes observés sur chaque accession, par une analyse de variance utilisant un modèle linéaire généralisé avec la loi de Poisson (packages **sciplot**, **multcomp**, **multcompView**, **gtools**).

Les interactions phylotype x allèle étant très fortes, nous allons ensuite tester simplement l'effet du facteur souche sur les phénotypes observés ; les moyennes ont été comparées par un test de Tukey au seuil $P=0.05$.

Tableau 5. Correspondance entre le niveau de colonisation observé sur les boîtes et les classes de colonisation utilisées pour l'analyse.

Niveau de colonisation	Code	Valeurs attribuées
rien	-	0
1 secteur (env. 10 colonies)	+	1
2 secteurs	++	2
3 secteurs	+++	3

Tableau 6. Amorces utilisées pour la détection de *Ralstonia solanacearum* et l'identification du phylotype des souches (Pmx-PCR) (Fegan and Prior, 2005).

Primer	Sequence (5' to 3')	Specificity	Amplicon size when paired with Nmult:22:RR
Nmult21:1F	CGTTGATGAGGCGCGCAATTT	Phylotype I	144bp
Nmult21:2F	AAGTTATGGACGGTGGAAGTC	Phylotype II	372bp
Nmult23:AF	ATTACSAGAGCAATCGAAAGATT	Phylotype III	91bp
Nmult22:InF	ATTGCCAAGACGAGAGAAGTA	Phylotype IV	213bp
Nmult22:RR	TCGCTTGACCCTATAACGAGTA	All phylotypes	NA ^a

^a Not Applicable

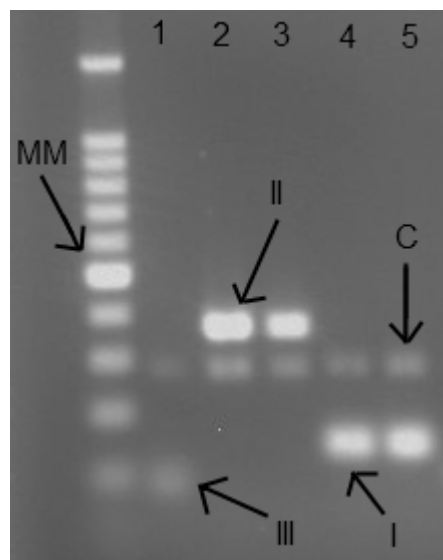


Figure 12. Exemple de gel de PCR multiplex « Phylotypes » (Pmx-PCR)
MM, Marqueur Moléculaire 100 kb ; **C**, bande spécifique de l'espèce *Ralstonia solanacearum*; **I**, bande à 144 kb représentant les souches du phylotype I ; **II**, bande à 372 kb représentant le phylotype II ; **III**, bande à 93 kb représentant le phylotype III.

4. Résultats

4.1. Cartographie de la résistance de MM195 à GMI1000 et PSS4

Le trop faible nombre d'individus F2 sur lesquels l'ensemble des marqueurs RFLP et AFLP ont pu être cartographiés et pour lesquels des semences F3 étaient disponibles (moins d'une trentaine) nous a incité à n'utiliser dans un premier temps que les marqueurs AFLP. Ceux-ci ont pu être cartographiés sur 60 individus F2 dont les semences F3 sont disponibles en vue de l'étude QTL. Une carte comportant 375 marqueurs AFLP co-dominants sur 15 groupes de liaison a été obtenue (Annexe 1). Elle couvre une longueur totale de 604 cM, soit pas plus de la moitié d'une carte génétique normalement attendue chez l'aubergine.

4.1.1. Analyses phénotypiques





Les pertes à la germination et en raison de l'incidence de certains pathogènes et ravageurs sur les plantules (*Polyphagotarsonemus latus*, fourmis, *Sclerotinia sclerotinium*) au final ont été relativement faibles, même si quelques lignées présentaient un nombre de plants inférieur au nombre de plants théorique.

Les analyses de variance ont été faites sur les différentes variables générées par le suivi symptomatologique vis-à-vis des deux souches testées. Les valeurs moyennes des parents et générations en ce qui concerne les variables pour lesquelles un effet significatif de la famille a été trouvé sont présentées dans le tableau 1 de l'annexe 2. En ce qui concerne la souche PSS4, les analyses de variance ont montré un effet significatif de la saison mais pas pour l'interaction famille x saison. Les valeurs des héritabilités estimées à partir de ces variances sont faibles à moyennes.





Ces variables ont fait ensuite l'objet d'analyses de corrélations (tableaux 8a et 8b). Nous avons ainsi pu sélectionner les variables les plus informatives et pour lesquelles les valeurs d'héritabilité étaient les plus élevées en vue des analyses QTL (tableau 7). Les valeurs moyennes des témoins résistants et sensibles ajoutés à l'essai sont présentées dans le tableau 2 de l'annexe 2. On remarque le très bon comportement des accessions résistantes E1 et E3 vis-à-vis de PSS4, avec des niveaux de résistance bien supérieurs à celui obtenu par AG91-25 (E6) et MM195 (E7).


L'indice de Colonisation (IC) avec la souche PSS4 n'a pas été retenu pour l'analyse QTL car on observe un effet significatif de la famille uniquement dans le cas de la saison 2, saison au cours de laquelle la pression d'inoculation a été moins forte. Par ailleurs, pour cette saison 2, la distribution des valeurs avec cette variable est trop distordue et décalée vers la sensibilité ; Nous avons procédé de la même façon pour la souche GMI1000 avec les variables W et Score qui n'ont pas été retenues pour l'analyse des QTLs au vu des courbes obtenues (Annexe 3).


Tableau 7. Moyennes des parents et des descendants issus du croisement MM195 (P1) x MM738 (P2) ainsi que des composantes de la variance et de l'héritabilité pour le pourcentage de flétrissement (W), l'indice de colonisation (IC), l'AUDPC du score (SCO_{AUDPC}) et du flétrissement (W_{AUDPC}) utilisés pour l'étude de la résistance face à deux souches du phylotype I (GMI1000 et PSS4) de *R. solanacearum*.

		Moyenne ^a														Variances ^b					
		P1		P2		F ₁		F ₂		BC ₁ P1		BC ₁ P2		F ₃					 ^c	Ic _{p=90%} ^d	
GMI1000	W _{32j} (%)	7.6	(3.1)	84.3	(6.5)	46.4	(10.7)	51.9	(4.5)	32.8	(21.7)	49.9	(13.2)	43.1	(1.7)	108.8**	-	215.8	0.50	-	
	W _M (%)	6.3	(3)	84.3	(6.5)	42.9	(7.1)	53.2	(3.2)	32.8	(21.7)	55.4	(12)	42.4	(1.7)	132.5***	-	181.4	0.59	-	
	SCO _{AUDPC}	0	(0)	2	(0)	1	(0)	1	(0)	1	(1)	1	(0)	1	(0)	0.1***	-	0.1	0.65	-	
	IC (%)	14.7	(3)	88.6	(4.3)	46.4	(3.6)	59.7	(4.4)	38.4	(16.2)	61.4	(14.7)	49.7	(1.7)	109.5**	-	184.8	0.54	-	
PSS4	S1 ^c	W _{20j} (%)	37.5	(5.1)	91.2	(3.8)	70	(10)	77.3	(6.1)	71.1	(5.6)	81.7	(1.7)	61	(1.8)	160.1***	-	137.8	0.70	-
		W _M (%)	70	(6.8)	97.4	(1.5)	90	(5)	95	(1.6)	89.8	(0.2)	93.3	(0)	86.3	(1.2)	32.4*	-	100.1	0.39	-
		SCO _{AUDPC}	2	(0)	3	(0)	2	(0)	3	(0)	2	(0)	3	(0)	2	(0)	0.1***	-	0.1	0.66	-
	S2 ^c	W _{20j} (%)	27.5	(2.6)	81.5	(7.5)	78.9	(21.1)	65.5	(6.2)	63.9	(2.8)	70	(16.7)	58.4	(1.7)	108.8***	-	164.1	0.57	-
		W _M (%)	53.4	(5.9)	92.6	(1.3)	92.1	(7.9)	89	(7.7)	88.9	(11.1)	86.7	(6.7)	81.5	(1.4)	67.2***	-	93.8	0.59	-
		SCO _{AUDPC}	1	(0)	3	(0)	3	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	0.1***	-	0.1	0.64	-
	Comb. ^c	W _{20j} (%)	32.5	(3.3)	86.4	(4.3)	74.5	(9.9)	71.4	(4.9)	67.5	(3.3)	75.8	(7.6)	59.7	(1.2)	94.2**	NS	317.2	0.62	0.52-0.69
		W _M (%)	61.7	(5.2)	95	(1.3)	91.1	(3.9)	92	(3.6)	89.4	(4.5)	90	(3.3)	83.9	(0.9)	45.6*	NS	200.7	0.63	0.54-0.70
		SCO _{AUDPC}	1	(0)	3	(0)	3	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	0.1**	NS	0.2	0.66	0.57-0.72

^a L'erreur standard est donnée entre parenthèses.

^b , ,  : sont les estimateurs respectifs des variances entre les familles, de l'interaction familles x saison et des résidus. Tous les  étaient significatifs pour P < 0.001.

^c  : héritabilité au sens large.

^d Ci_{p=90%} : intervalle de confiance à 90% pour .

^e S1: saison 1, S2: saison 2, Comb.: saisons combinées.

Tableau 8a. Coefficients de corrélation de Pearson pour les critères de résistance évalués dans la population F3 pour la résistance à la souche GMI1000, phylotype I sur une saison. Tous les coefficients de corrélation sont significatifs au seuil de probabilité $\alpha = 5\%$.

	W_{18j} (%)	SCO_{32j}	W_{32j} (%)	SCO_M	W_M (%)	IC	SCO_{AUDPC}	W_{AUDPC}
SCO_{18j}	0.97	0.86	0.81	0.83	0.80	0.69	0.95	0.92
W_{18j} (%)		0.88	0.85	0.85	0.83	0.74	0.94	0.95
SCO_{32j}			0.98	0.99	0.97	0.88	0.97	0.97
W_{32j} (%)				0.96	0.97	0.91	0.93	0.96
SCO_M					0.99	0.90	0.95	0.95
W_M (%)						0.93	0.93	0.95
IC							0.82	0.87
SCO_{AUDPC}								0.99

Tableau 8b. Coefficients de corrélation de Pearson pour les critères de résistance évalués dans la population F3 pour la résistance à la souche PSS4, phylotype I : pour la saison 1 (police normale) ; pour la saison 2 (italique) et pour les critères de résistance entre les deux saisons (gras). Tous les coefficients de corrélation sont significatifs au seuil de probabilité $\alpha = 5\%$.

	SCO_{20j}	W_{20j} (%)	W_M (%)	IC	SCO_{AUDPC}	W_{AUDPC}
SCO_{20j}	0.43	1.00	0.82	0.79	0.97	0.96
W_{20j} (%)	<i>0.99</i>	0.44	0.83	0.80	0.97	0.97
W_M (%)	<i>0.71</i>	<i>0.72</i>	0.46	0.95	0.92	0.92
IC	<i>0.71</i>	<i>0.72</i>	<i>0.96</i>	0.38	0.88	0.88
SCO_{AUDPC}	<i>0.94</i>	<i>0.94</i>	<i>0.87</i>	<i>0.86</i>	0.50	1.00
W_{AUDPC}	<i>0.93</i>	<i>0.93</i>	<i>0.88</i>	<i>0.86</i>	<i>1.00</i>	0.49

4.1.2. Analyses génétiques et recherche de QTL

L'observation des valeurs moyennes obtenues chez les deux parents et leur comparaison avec celles obtenues pour les générations dérivées F1, F2, F3 et BC1 indiquent chez MM195 un déterminisme génétique de la résistance à la souche GMI1000 de type quantitatif. Face à la souche agressive PSS4, cette résistance ne s'exprime que de façon partielle et à un stade précoce. On peut donc faire l'hypothèse d'un système de type polygénique avec des effets additifs de différents locus concourant à la résistance. L'étude QTL a effectivement permis de localiser un certain nombre de locus associés à la résistance et variables suivant le trait étudié et la souche bactérienne utilisée (Tableau 9, figures 13 et 14). Des QTL significatifs ont été détectés sur les groupes de liaison 1, 2, 3, 6, 9, 13, 14 et 15. Les valeurs de LOD varient de 5 à 12.2. Seul le QTL détecté en position 4 cM sur le LG 9 se retrouve pour les deux souches. Les autres QTL semblent spécifiques du trait et/ou de la saison. On observe par ailleurs que quasiment seuls les effets additifs sont significatifs ce qui confirme l'action globalement additive de cette résistance pour tous les traits considérés. Le signe de l'additivité positif pour quelques-uns de ces QTL indiquerait que l'allèle contribuant à la résistance peut être apporté par le parent sensible dans certains cas.

Tableau 9. QTLs détectés pour la résistance aux souches GMI1000 et PSS4 de *R. solanacearum* basés sur l'analyse en CIM dans la population F3 dérivée du croisement entre MM738 et MM195.

Souche	Saison	Variable	LG ^a	QTL		CIM			
				Position (cM) ^b	Marqueurs	LOD ^c	R ² ^d	a ^e	d ^f
GMI1000		W _{18j} (%)	9	6 (4-12)	266-267	5.0	33.2	NS	NS
		W _{32i} (%)	9	6 (4-10)	266-267	6.0	38.5	-9.1**	NS
		W _M (%)	9	6 (4-8)	266-267	6.8	42.2	-16.0**	NS
			9	30 (26-32)	270-271	7.3	47.0	11.8**	NS
			14	2 (2-6)	357-358	6.0	39.2	-7.7**	NS
		Total R ²					49.0		
		SCO _{AUDPC}	9	6 (4-10)	266-267	7.1	43.6	-0.2*	NS
		IC (%)	9	6 (4-10)	266-267	5.4	35.1	-7.6*	NS
		W _{20i} (%)	6	48 (46-50)	190-191	8.7	48.5	-8.6**	NS
			9	4 (2-6)	251-252	5.7	35.5	-7.2**	NS
PSS4	S1		15	10 (6-12)	374-375	7.1	42	NS	8.4*
		Total R ²					38.8		
		SCO _{AUDPC}	6	46 (44-50)	189-190	7.0	41.6	-0.3**	NS
			9	4 (2-6)	251-252	5.8	35.9	-0.2**	NS
			15	12 (6-12)	374-375	6.2	37.9	NS	0.3**
		Total R ²					44.8		
	S2	W _{20i} (%)	2	0 (0-2)	52-53	8.7	52.5	-10.7**	NS
			2	12 (10-14)	57-58	12.2	60.9	16.2**	NS
			3	12 (8-14)	88-89	11.7	59.4	-9.1**	NS
			4	38 (30-44)	99-100	5.0	31.9	NS	NS
			6	58 (56-58)	198-199	11.4	58.3	-7.3**	NS
		Total R ²					42.0		
		W _M (%)	1	34 (32-38)	25-26	6.2	38.0	NS	NS
			7	18 (14-22)	201-202	5.4	33.9	NS	NS
			9	4 (2-6)	251-252	6.7	41.5	-6.5**	NS
			13	30 (28-34)	355-356	5.4	36.5	NS	NS
	Comb	Total R ²					18.4		
		SCO _{AUDPC}	2	0 (0-2)	52-53	5.0	34.4	-0.2**	NS
			2	12 (10-14)	57-58	7.8	45.2	0.4**	NS
			3	12 (8-16)	88-89	8.3	47.0	-0.2**	NS
			6	58 (56-58)	198-199	5.7	35.6	-0.2**	NS
			14	0 (0-6)	357-358	5.4	34.5	NS	NS
		Total R ²					48.8		
		W _{20i} (%)	2	34 (30-38)	77-78	6.9	41.0	NS	10.7**
		W _M (%)	2	34 (30-38)	77-78	5.8	35.9	NS	-8.0**
			9	10 (6-14)	266-267	5.0	31.8	-3.6*	NS
		Total R ²					21.9		
		SCO _{AUDPC}	2	34 (32-38)	77-78	7.6	44.4	-0.1*	-0.2*
			6	48 (46-50)	190-191	10.5	55.2	-0.2**	NS
			9	4 (2-6)	251-252	8.5	48.0	-0.2**	NS
			15	6 (4-10)	373-374	7.3	42.9	-0.1*	0.2*
		Total R ²					52.7		

^a LG, Groupe de liaison.

^b Position du QTL sur le groupe de liaison et intervalle de confiance donné entre parenthèses.

^c LOD, valeur du maximum de vraisemblance pour l'intervalle donné par les marqueurs (les valeurs sont supérieures au seuil du LOD : 4 pour la CIM).

^d R², part de la variation phénotypique expliquée par le QTL détecté ; Total R² : part de la variation phénotypique expliquée par tous les QTLs détectés pour une variable donnée.

^e a, additivité : positive si le QTL est fourni par le parent A (MM738), négative si c'est le parent B (MM195).

^f d, dominance.

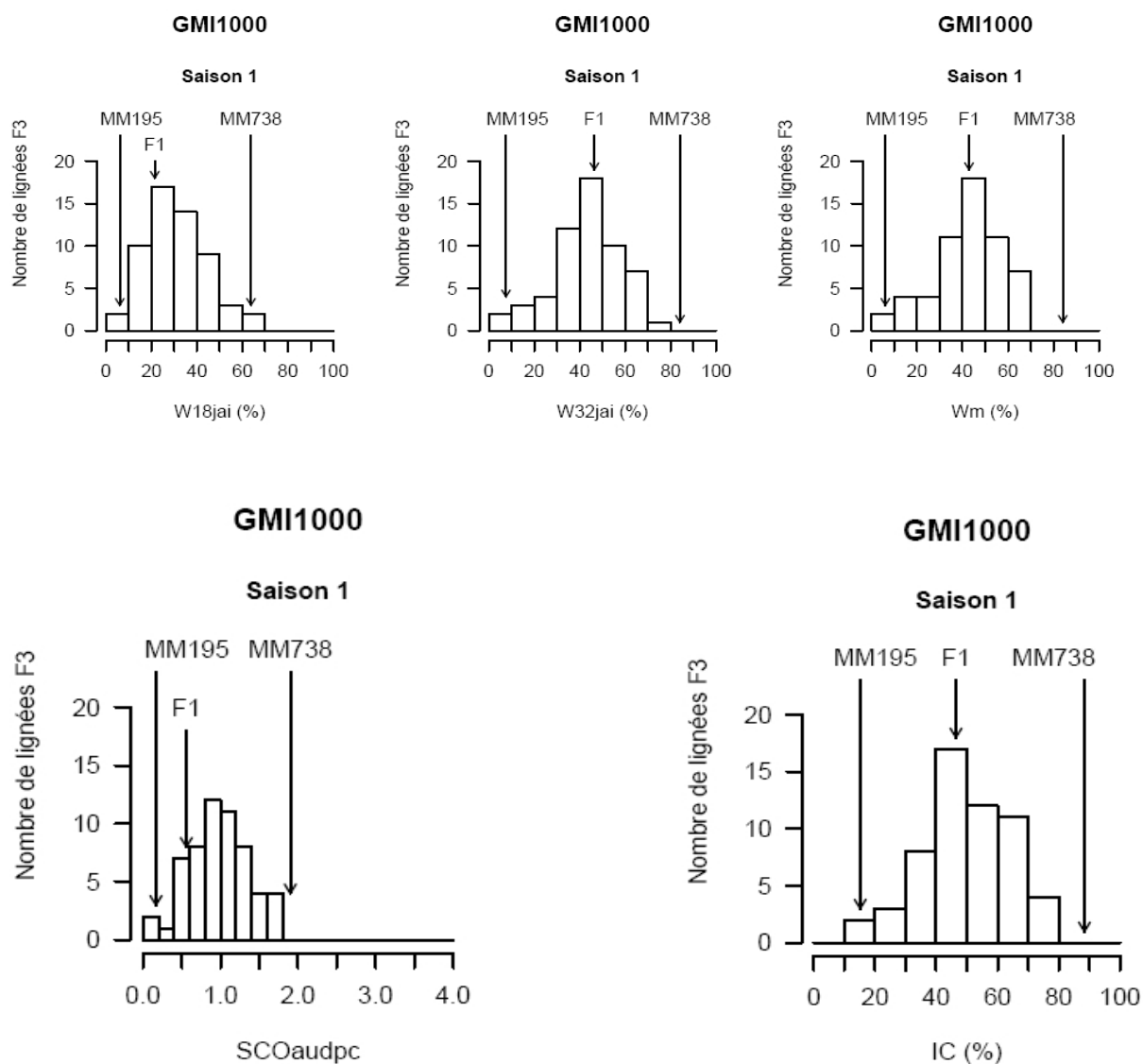


Figure 13. Histogrammes des fréquences moyennes pour les variables utilisées lors de la recherche de QTL dans le cas de la résistance à GMI1000.

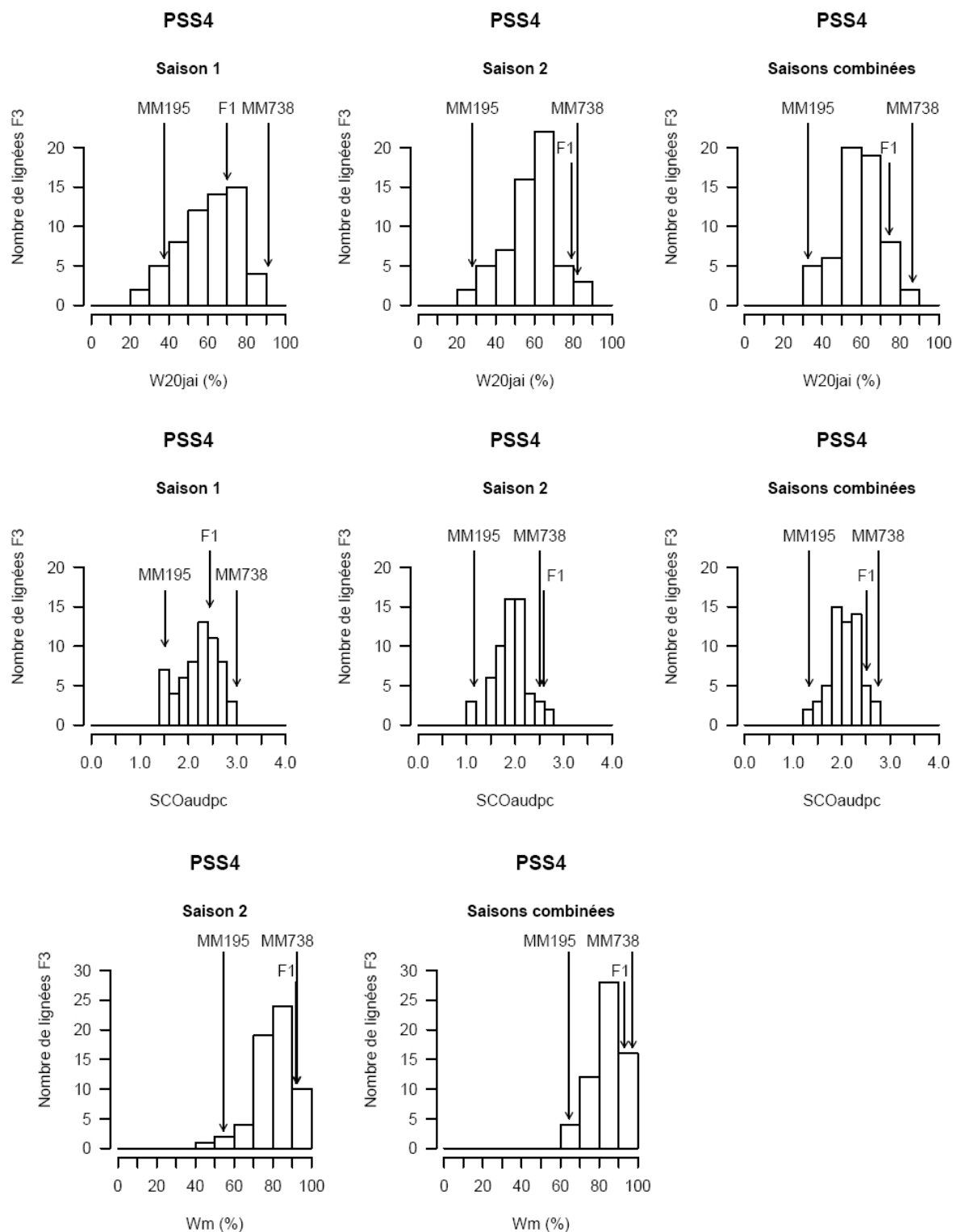


Figure 14. Histogrammes des fréquences moyennes des variables utilisées lors de la recherche de QTL dans le cas de la résistance à PSS4.

4.2. Caractérisation phénotypique de l'interaction entre PopP2/*ERS1*

Les différences les plus marquées ont été observées à 48h après inoculation, tandis que les réactions à 72h ont tendance à saturer. Visuellement, les souches de phylotype II réagissent différemment des I et III : pas de réaction à 48h, puis forte réaction à 72h.

Pour la comparaison des réactions induites par des souches porteuses des différents allèles de popP2, on s'est donc limité à la lecture à 48H.

Les accessions présentent des variabilités de réponse différentes. G074 (*ERS1*-) et G043 (*ERS1*+) montrent une forte variabilité inter-plante, ainsi que E7, ce qui limite leur intérêt dans cette analyse. A l'inverse, G360 (*ERS1*-) et G020 (*ERS1*+) , ainsi que E6, donnent des résultats très cohérents.

Le diagnostic PCR a permis de détecter quelques cas de contamination croisée (mélange de phylotypes), heureusement rares.

4.2.1. Corrélation entre notes de nécrose et absence de colonisation

RUN145 provoque visiblement une véritable HR (Figure 13), avec un blocage de la colonisation de la feuille. Ces HR sont cependant non spécifiques des lignées porteuses de *ERS1*.

En revanche RUN969, qui provoque une forte réaction sur E8, colonise pourtant la feuille à de forts taux de populations ; cette souche provoquerait donc plutôt une nécrose sans HR.

D'autres cas de HR vraie sont observés avec RUN155xE7 et MM127, G043 (*ERS1*+) et G244 (*ERS1*+).

En revanche, les cas de réaction faible (note 1 et 2) avec forte colonisation sont rares : 928xMM134, RUN157 xG291 (*ERS1*+) et E6 (*ERS1*+) . Il est étonnant de voir que l'accession sensible E8 (MM738) présente des réactions relativement fortes, tout en étant bien colonisée par RUN969, RUN928, RUN147, RUN, et à 2 plants sur 3 pour RUN157, RUN523, RUN913.

	Phylotype		I	I	I	I	II	II	II	III	III	III
	Allèle		1	3	-	i	1	3	-	1	3	-
	Acc.	Plants	RUN 54	RUN 155	RUN 157	RUN 969	RUN 919	RUN 928	RUN 147	RUN 523	RUN 145	RUN 913
48h	MM134	P1		1	1			2	2	2	1	
	MM134	P2		2	1	3	3	2		1	2	
	MM134	P3	1	2	1	2		2	1	2	2	
	MM127	P1			3	3						
	MM127	P2			3							
	MM127	P3	3		3	3	2	2	1			
	E7	P1	2		3	3		3	2	1		
	E7	P2				3		2	2	1		
	E7	P3	2			3		3	2			
Ers1 +	E6	P1	2		3	3			3			
Ers1 +	E6	P2		2	3	3	2		2			
Ers1 +	E6	P3	3		3	3	3		2			
Ers1 +	G020	P1	2		3	3	2					
Ers1 +	G020	P2	2				1					
Ers1 +	G020	P3			3							
Ers1 +	G043	P1			3	1	3	2	2	1		
Ers1 +	G043	P2	2		2	3	2	3	3			1
Ers1 +	G043	P3				3		3				2
Ers1 +	G244	P1			2	3		2	3			
Ers1 +	G244	P2	3					3		1		
Ers1 +	G244	P3			3	2		2	1	1		2
Ers1 +	G291	P1			3	2			3			
Ers1 +	G291	P2	2	2	1			3	1			
Ers1 +	G291	P3			3	2		2				
Ers1 -	E8	P1		2		3	3	3	1			2
Ers1 -	E8	P2			3	2	3	3	1	1		
Ers1 -	E8	P3			3	3	3	2	3	3		1
Ers1 -	G074	P1			3	2		1				
Ers1 -	G074	P2				3						
Ers1 -	G074	P3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ers1 -	G136	P1	2					2				
Ers1 -	G136	P2	3		3	1		3	3			
Ers1 -	G136	P3					2					
Ers1 -	G360	P1	1		2	1	3		2			2
Ers1 -	G360	P2	2		3		2	2	2	2		3
Ers1 -	G360	P3	3	3	3	2		2			1	3
CODE COULEUR HR			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CODE COLONISATION			0	1	2	3						

Figure 13. Réactions observées sur les différentes accessions (Acc.), après 48h d'incubation. Les souches de *R.solanacearum* sont rangées par phylotype, et par allèle de popP2 (- : absence, 1 : 982 bp ; 3 : 950 bp). Les couples souche x accession colonisés sont figurées en grisé, avec leur classe de colonisation bactérienne.

4.2.2. Relation entre l'allèle de *PopP2* et le phénotype (Figure 14 et Tableau 10)

D'après la figure 14, les phénotypes regroupent surtout les souches de phylotype II avec le phylotype I sans *PopP2*. Deux autres groupes sont distingués : phylotype I-allèle 1 phylotype III sans *PopP2* d'un côté, phylotype III-allèle 3 phylotype I-allèle 3 de l'autre.

Sur le tableau 10, on compare 3 accessions porteuses du gène *ERS1* à trois accessions dépourvues de ce gène.

Cas de E6 (AG91-25), qui porte ERS1 de façon sûre

- ➔ Avec l'allèle 0, les souches de phylotype I (RUN157) et II (RUN147) n'induisent effectivement ni HR ni symptômes, et colonisent bien la feuille (Figure 14), mais le phylotype III (RUN913) induit une chlorose sans colonisation.
- ➔ Avec l'allèle 1, le phylotype II (RUN919) ne réagit pas à 48h et colonise 2 feuilles sur 3, tandis que phylotype III (RUN523) donne une HR vraie sur 2 plants sur 3, et le phylotype I (RUN54) donne une chlorose et brunissement sur 2 plants sur 3, avec colonisation de 2 feuilles sur 3.
- ➔ Avec l'allèle 3, phylotype I et III (RUN155 et 145, respectivement) donnent une HR intense, alors que le phylotype II (RUN928) ne donne qu'une légère chlorose sans colonisation.

Cas des autres lignées ERS1+

G244 et G20 donnent les mêmes tendances que E6 pour les allèles 0 et 1 (réaction nulle ou limitée à de la chlorose), bien que I-0 et III-0 donnent des symptômes un peu plus élevés que II-0. Seul III-3 (RUN145) provoque une HR intense.

Cas des lignées dépourvues de ERS1

Seules les souches d'allèle 0 de phylotype I et II, ainsi que le phylotype II-allèle 3 provoquent des symptômes très faibles, à une légère chlorose.

En revanche, les allèles 3 de phylotype I (RUN155) et III (RUN145) provoquent des HR, du moins sur E8 et G360.

Cas des autres lignées : E7, MM134, MM127 (Figure 13 et Annexe 4)

E7 donne une HR en réponse à toutes les souches de phylotype III, quel que soit leur allèle *PopP2* ; à l'opposé, elle réagit peu à l'allèle 0 des phylotype I et II, qui colonisent les tissus. Des deux lignées parentales de E6, c'est MM127 qui donne les réactions les plus similaires : elle n'est en effet pas colonisée par les souches portant les allèles 1 et 3 de *PopP2*, alors que MM134 l'est.

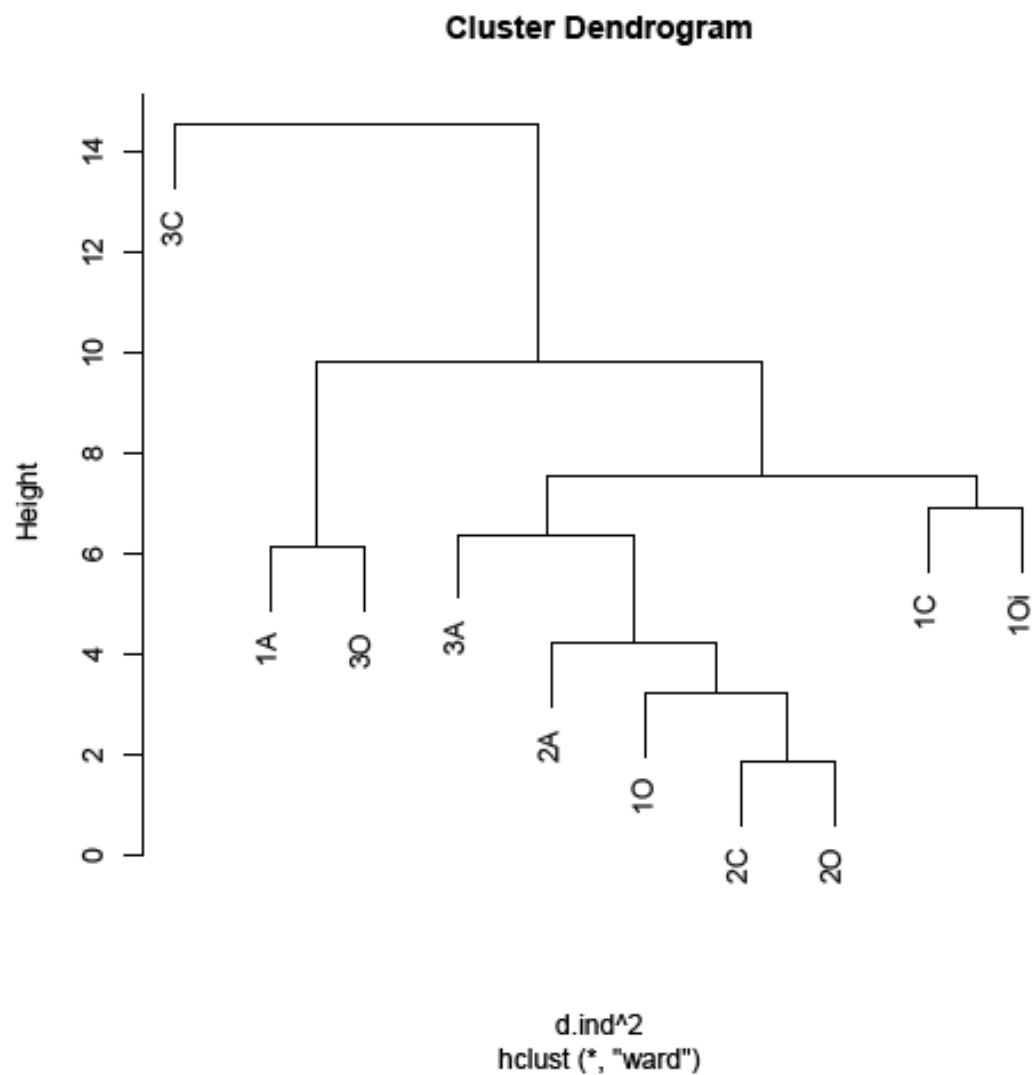


Figure 13. Classification hiérarchique ascendante des phylotypes et allèles de PopP2 en fonction des phénotypes de chlorose-nécrose qu'ils provoquent après 48h. Les souches de *R.solanacearum* sont désignées par leur phylotype (1, 2, 3), et l'allèle de popP2 (A : allèle 1 (972 bp), C : allèle 3 (950 bp)).

Tableau 10. Exemples de phénotypes de chlorose/nécrose provoqués par les souches portant les différents allèles de popP2, sur 4 accessions, à 48h.

SUR E6 (<i>ERS1+</i>)		
Phyl - allèle	souche	Note chlorose/nécrose
II-0	RUN147	1.67 ± 0.33 b
I-0	RUN157	1.67 ± 0.33 b
I-?	RUN969	1.67 ± 0.33 b
II-1	RUN919	2.00 ± 0.00 ab
II-3	RUN928	2.00 ± 0.00 ab
I-1	RUN54	3.00 ± 1.00 ab
III-0	RUN913	4.33 ± 0.33 ab
III-1	RUN523	5.33 ± 1.67 ab
I-3	RUN155	7.00 ± 0.00 ab
III-3	RUN145	8.00 ± 0.00 a

SUR E8 (<i>ERS1-</i>)		
Phyl - allèle	souche	Note chlorose/nécrose
II-1	RUN919	1.33 ± 0.33 b
II-0	RUN147	2.00 ± 0.00 ab
I-0	RUN157	2.00 ± 0.00 ab
I-1	RUN54	2.00 ± 1.15 ab
II-3	RUN928	2.67 ± 0.67 ab
III-1	RUN523	5.00 ± 1.53 ab
I-3	RUN155	5.67 ± 1.86 ab
III-0	RUN913	6.00 ± 1.00 ab
III-3	RUN145	8.00 ± 0.00 a
I-?	RUN969	8.00 ± 0.00 a

SUR G020 (<i>ERS1+</i>)		
Phyl - allèle	souche	Note chlorose/nécrose
I-0	RUN157	0.00 ± 0.00 b
III-1	RUN523	0.67 ± 0.67 b
I-3	RUN155	1.33 ± 0.67 b
II-0	RUN147	2.00 ± 0.00 ab
I-1	RUN54	2.00 ± 0.00 ab
III-0	RUN913	2.00 ± 0.00 ab
II-1	RUN919	2.00 ± 0.00 ab
II-3	RUN928	2.00 ± 0.00 ab
I-?	RUN969	3.00 ± 2.08 ab
III-3	RUN145	7.67 ± 0.33 a

SUR G360 (<i>ERS1-</i>)		
Phyl - allèle	souche	Note chlorose/nécrose
I-?	RUN969	0.67 ± 0.33 c
II-0	RUN147	1.67 ± 0.33 bc
I-0	RUN157	1.67 ± 0.33 bc
I-1	RUN54	1.67 ± 0.33 bc
II-3	RUN928	2.00 ± 0.00 abc
III-1	RUN523	2.33 ± 0.88 abc
III-0	RUN913	4.33 ± 0.33 abc
I-3	RUN155	7.00 ± 0.00 ab
II-1	RUN919	7.00 ± 0.00 ab
III-3	RUN145	8.00 ± 0.00 a

SUR G244 (<i>ERS1+</i>)		
Phyl - allèle	souche	Note chlorose/nécrose
II-0	RUN147	1.67 ± 0.33 b
II-1	RUN919	1.67 ± 0.33 b
II-3	RUN928	1.67 ± 0.33 b
I-0	RUN157	2.00 ± 0.00 ab
III-1	RUN523	2.00 ± 0.00 ab
I-1	RUN54	3.00 ± 1.00 ab
III-0	RUN913	3.67 ± 0.88 ab
I-3	RUN155	5.00 ± 2.00 ab
I-?	RUN969	5.67 ± 2.33 ab
III-3	RUN145	8.00 ± 0.00 a

SUR G136 (<i>ERS1-</i>)		
Phyl - allèle	souche	Note chlorose/nécrose
II-0	RUN147	2.00 ± 0.00 a
II-3	RUN928	2.00 ± 0.00 a
I-0	RUN157	2.67 ± 0.67 a
I-1	RUN54	2.67 ± 1.33 a
I-?	RUN969	3.33 ± 1.86 a
I-3	RUN155	3.67 ± 1.67 a
III-1	RUN523	3.67 ± 1.67 a
II-1	RUN919	3.67 ± 1.67 a
III-0	RUN913	5.00 ± 1.00 a
III-3	RUN145	6.00 ± 2.00 a

Légende : Phyl-allèle : phylotype (I, II, ou III), suivi de l'allèle de **popP2**
(0= absence, 1= allèle 972bp, 3= allèle 950 bp)

5. Discussion

Notre étude exploratoire de la résistance présente dans l'accession MM195 (E7) a été menée vis-à-vis de deux souches de *R. solanacearum* : (i) la souche de référence GMI1000 (pathoprofil a) dont le génome est séquencé et vis-à-vis de laquelle E7 a montré un bon niveau de résistance ; (ii) la souche PSS4, agressive et à spectre de virulence plus large (pathoprofil e), et capable de contourner cette résistance (Lebeau et al. 2011). L'objectif était de voir si certains locus associés à la résistance à GMI1000, sont plus particulièrement contournés par PSS4 ou bien spécifiques de cette souche. Un argument important pour mener cette étude de résistance était au départ que la population F2 [MM738 x MM195] était déjà cartographiée, constituant la carte de référence publiée de l'aubergine (Doganlar et al. 2002; Tanksley et al. 2009). En outre, l'opportunité de faire une recherche QTL pour la résistance à *R. solanacearum* dans ce fond génétique pouvait permettre de se faire une première idée de la diversité des facteurs de résistance chez l'aubergine, en comparant nos résultats avec ceux obtenus par A. Lebeau (2010) sur la population RILs MM738 x AG91-25 vis-à-vis des mêmes souches. Aucune étude de ce type n'avait à notre connaissance encore été menée chez l'aubergine (Lebeau 2010).

Néanmoins pour pouvoir faire le lien entre ces deux populations, il faut disposer de marqueurs ancrés permettant d'identifier les parties du génome correspondantes. Par ailleurs la longueur totale de la carte génétique AFLP construite et utilisée pour notre étude est la moitié de celle attendue dans le cas de l'aubergine, avec pour conséquence une mauvaise couverture du génome et la possibilité de ne pas avoir détecté un QTL majeur présent chez MM195. La carte AFLP produite doit donc impérativement intégrer un minimum de marqueurs RFLP et COSII déjà cartographiés (2 ou 3 par groupe de liaison) ce qui permettrait également la comparaison avec le génome de la tomate, pour voir si les loci de résistance à *R. solanacearum* se trouvent dans des régions communes entre les deux espèces. Nous avons également tenté une approche indirecte consistant à positionner sur la carte de référence de Tanksley, Wu et al (2009) les marqueurs flanquant les QTL détectés dans notre étude, cela en traitant ces QTLs comme des variables (données non présentées dans le rapport). On observe ainsi une répartition des locus détectés sur tous les chromosomes de l'aubergine, à l'exception du chromosome 6.

L'autre problème est le très faible effectif de la population cartographiée avec pour conséquence l'impossibilité de détecter de façon fiable des QTL à effet faible ou intermédiaire. Les valeurs de R^2 obtenues sont ainsi largement surestimées du fait du faible effectif de la population. Néanmoins, il serait tout de même intéressant d'essayer une recherche QTL sur la population d'une trentaine de lignées à la fois phénotypées et génotypées avec les marqueurs RFLP et COS (Tanksley et al. 2009) ou avec l'ensemble des marqueurs RFLP, COS et AFLP, de façon à vérifier si un QTL majeur n'est pas malgré tout détectable.

Par ailleurs, la valeur relativement faible des héritabilités estimées, qui indique que la majeure partie de la variabilité d'un trait reflète des conditions environnementales insuffisamment contrôlées. Bien que notre dispositif expérimental et la technique d'inoculation utilisée aient montré leur efficacité lors des études précédentes, une façon d'améliorer encore le dispositif serait d'augmenter l'effectif de chaque lignée F3.

En dépit des critiques et limites évoquées, un certain nombre de QTL ont été détectés. Parmi ceux-ci, un seul apparaît vis-à-vis des deux souches et se retrouve approximativement dans la même région du groupe de liaison 9. Les autres QTL détectés semblent spécifiques de la souche, de la variable considérée, ou bien de la saison dans le cas de la souche PSS4. Au-delà de cette constatation, il est impossible de tirer des conclusions quant à la nature exacte du

contrôle génétique de la résistance chez MM195. Au vu des données sur les parents et les générations dérivées, il s'agit bien d'une résistance de type quantitative avec des effets globalement additifs des locus impliqués, qui permet de contrôler assez efficacement la souche GMI1000. Le contournement au moins partiel de cette résistance par la souche PSS4 ne peut pas être relié à un QTL majeur en particulier détecté dans nos expérimentations, comme cela était le cas dans l'étude d'A. Lebeau avec la présence/absence du gène/QTL majeur *ERs1* en fonction de la souche bactérienne inoculée (Lebeau et al., soumis à Theor Appl Genet). Une population d'effectif plus important et une carte génétique couvrant mieux le génome seraient de toute façon nécessaires pour éclaircir le sujet. Cependant, au vu du bon niveau de résistance à PSS4 observé dans d'autres accessions d'aubergine, comme par exemple E1 ou E3, joints comme témoins dans nos essais, il paraît plus prometteur d'investir dans celles-ci pour disséquer la résistance et produire de nouveaux gènes/QTLs majeurs, avec pour objectif à terme de les pyramider avec *ERs1* dans un programme de sélection.

L'étude de l'interaction entre les différents allèles de popP2 et les lignées contenant *ERs1* a généré un nombre important de résultats. Il sera nécessaire de répéter cet essai, pour estimer la reproductibilité des symptômes observés, ainsi que la robustesse de l'échelle de notation, très détaillée. Il sera également intéressant de tester une inoculation par les racines sur les lignées afin de caractériser leur résistance.

Ce premier essai a déjà permis de distinguer différentes accessions modèles : G360, G020, G244, qui seront testées à nouveau. A l'inverse G074, qui donne des résultats trop variables, sera laissée de côté.

Selon le modèle simple d'interaction « gène d'avirulence *PopP2* » / « gène de résistance *ERs1* », nous aurions dû observer :

- De fortes HR sur les couples GMI1000 x E6 et lignées *ERs1*+
- De fortes HR sur les couples « allèle1 et 3 » x E6 et lignées *ERs1*+
- Aucune HR sur E8 et les lignées *ERs1* –
- Une colonisation forte sur E8 et les autres *ERs1*-, accompagnée d'une absence de colonisation des lignées *ERs1*+

Les résultats obtenus montrent surtout que ce sont les souches de phylotype II qui induisent les réactions les moins intenses, et qu'à l'inverse les souches de phylotype III, et les souches portant l'allèle 3 de *PopP2* sont celles qui provoquent les HR les plus nettes. Par ailleurs, le parent sensible E8 est bien colonisé par la plupart des souches, mais donne une HR nette avec RUN145 (phylotype III-allèle 3) et RUN913 (phylotype III sans *PopP2*).

Le modèle d'interaction testé ici est donc très probablement trop simpliste. L'hypothèse d'un biais méthodologique lié à l'organe inoculé n'est pas à exclure. En conditions réelles, le dialogue moléculaire entre *R. solanacearum* et sa plante-hôte commence dans les racines, et non dans les feuilles. Pour autant les tests d'inoculation de *R. solanacearum* sur feuille ont déjà été menés avec succès, notamment pour des études de compétition bactérienne *in planta* (Macho et al. 2010). Il sera probablement intéressant d'étudier de plus près la compartimentation des réactions de résistance au sein de la plante ; il se peut que la plante ne développe pas la même panoplie d'éléments de détection dans ses organes aériens. Des essais de corrélation entre réponse racinaire et réponse sur feuille seront à envisager.

La méthodologie d'inoculation devra également être revue afin d'éviter les biais liés au faible nombre de répétitions et aux facteurs intrinsèques à la plante. Ainsi, il faudra réduire le nombre de variétés inoculées pour se focaliser sur une seule lignée représentative de chaque profil de résistance et augmenter les répétitions. Par exemple, choisir G020 pour les lignées

présupposées porteuses de *ERs1* et G360 pour celles supposées non porteuses d' *ERs1*. Le test devra donc porter sur 6 accessions au plus : E6, E8, G020, G360, et éventuellement MM134 et MM127. L'idéal serait d'inoculer une souche par plant avec une à deux infiltrations par feuille, et ce sur 4 feuilles minimum. Les injections devront être réalisées loin de la nervure principale et de préférence en bout de feuille. On pourra alors observer la variabilité de réaction en fonction de l'âge et de la position des feuilles. Pour une accession donnée, on aura donc 20 plants à inoculer si on réalise 2 répétitions pour chacune des dix souches. Il sera également important soit d'organiser les semis et les repiquages de façon à avoir des plants synchronisés lors de l'inoculation, soit de tester les plants à différents stades phénologiques et physiologiques. Les prélèvements pour les tests de colonisation devront être réalisés entre la zone d'infiltration et la nervure principale. Des échantillons supplémentaires pourront être prélevés au niveau du pétiole, au-dessus du collet ainsi qu'à l'apex caulinaire pour tenter d'évaluer la cinétique de dissémination de la bactérie au sein de la plante.

Pour approfondir la compréhension de ces interactions, il sera tout d'abord nécessaire de séquencer les allèles 1 et 3 présents dans les différents phylotypes ; il se peut en effet que des bandes de même taille, considérées comme le même allèle, soient en effet de séquences différentes.

Par ailleurs, l'interaction *popP2*/RRS1-R chez *Arabidopsis thaliana* fait intervenir non pas 2 mais 3 partenaires avec RD19 (modèle de garde). Dans le cas de l'aubergine AG91-25 et de son gène de résistance *ERs1*, il se peut que l'un des interacteurs de *PopP2* ne soit pas présent dans les lignées *ERs1*+ testées. De même il se peut que *PopP2* agisse en interaction avec d'autres effecteurs, non considérés dans cette étude par manque de temps. L'une des perspectives de ce travail est d'étudier l'effet de l'effecteur *popP2* tout seul, en utilisant la technique d'expression transitoire dans un vecteur *Agrobacterium* ; cette approche menée sur plus de 140 effecteurs de *Pseudomonas syringae* et *R. solanacearum* a permis d'identifier des répertoires impliqués dans la spécificité d'hôte (Wroblewski et al. 2009).

6. Références bibliographiques

- Angot A, Peeters N, Lechner E, Vailleau F, Baud C, Gentzbittel L, Sartorel E, Genschik P, Boucher C, Genin S (2006) *Ralstonia solanacearum* requires F-box-like domain-containing type III effectors to promote disease on several host plants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:14620-14625
- Bernoux M, Timmers T, Jauneau A, Briere C, de Wit P, Marco Y, Deslandes L (2008) RD19, an *Arabidopsis* cysteine protease required for RRS1-R-mediated resistance, is relocalized to the nucleus by the *Ralstonia solanacearum* PopP2 effector. *Plant cell* 20:2252-2264
- Buddenhagen IW, Elsasser TA (1962) An insect-spread bacterial wilt epiphytotic of bluggee banana. *Nature* 194:164-165
- Buddenhagen IW, Sequeira L, Kelman A (1962) Designation of races in *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 52:726
- Carmeille A, Caranta C, Dintinger J, Prior P, Luisetti J, Besse P (2006) Identification of QTLs for *Ralstonia solanacearum* race 3-phylo type II resistance in tomato. *Theoretical and Applied Genetics* 113:110-121
- Clifford J, Allen C (2007) A novel method to identify genes of *Ralstonia solanacearum* race 3 biovar 2 that are induced by host root exudates. *Phytopathology* 97:S23-S23
- Denny TP (2000) *Ralstonia solanacearum* - a plant pathogen in touch with its host. *Trends in Microbiology* 8:486-489
- Denny TP (2006) Plant pathogenic *Ralstonia* species. In: Gnanamanickam SS (ed) *Plant-associated bacteria*. Springer, Dordrecht, the Netherlands, pp 573-644
- Deslandes L, Olivier J, Peeters N, Feng Dong X, Khounlotham M, Boucher C, Somssich I, Genin S, Marco Y (2003) Physical interaction between RRS1-R, a protein conferring resistance to bacterial wilt, and PopP2, a type III effector targeted to the plant nucleus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:8024-8029
- Deslandes L, Olivier J, Theulieres F, Hirsch J, Feng D, Bittner E, P, Beynon J, Marco Y, Feng D (2002) Resistance to *Ralstonia solanacearum* in *Arabidopsis thaliana* is conferred by the recessive *RRS1-R* gene, a member of a novel family of resistance genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:2404-2409
- Doganlar S, Frary A, Daunay MC, Lester RN, Tanksley SD (2002) A comparative genetic linkage map of eggplant (*Solanum melongena*) and its implications for genome evolution in the solanaceae. *Genetics* 161:1697-1711
- Fegan M, Prior P (2005) How complex is the "*Ralstonia solanacearum* species complex". In: Allen C, Prior P, Hayward AC (eds) *Bacterial wilt disease and the *Ralstonia solanacearum* species complex*. APS Press, Madison, pp 449-462
- Genin S (2010) Molecular traits controlling host range and adaptation to plants in *Ralstonia solanacearum*. *New Phytologist* 187:920-928
- Genin S, Boucher C (2004) Lessons learned from the genome analysis of *Ralstonia solanacearum*. *Annual Review of Phytopathology* 42:107-134
- Gillings MR, Fahy P (1994) Genomic fingerprinting: towards a unified view of the *Pseudomonas solanacearum* species complex. In: Hayward AC, Hartman GL (eds) *Bacterial wilt: the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum**. CAB International, Wallingford, United Kingdom, pp 95-112
- Guidot A, Prior P, Schoenfeld J, Carrere S, Genin S, Boucher C (2007) Genomic structure and phylogeny of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum* inferred from gene

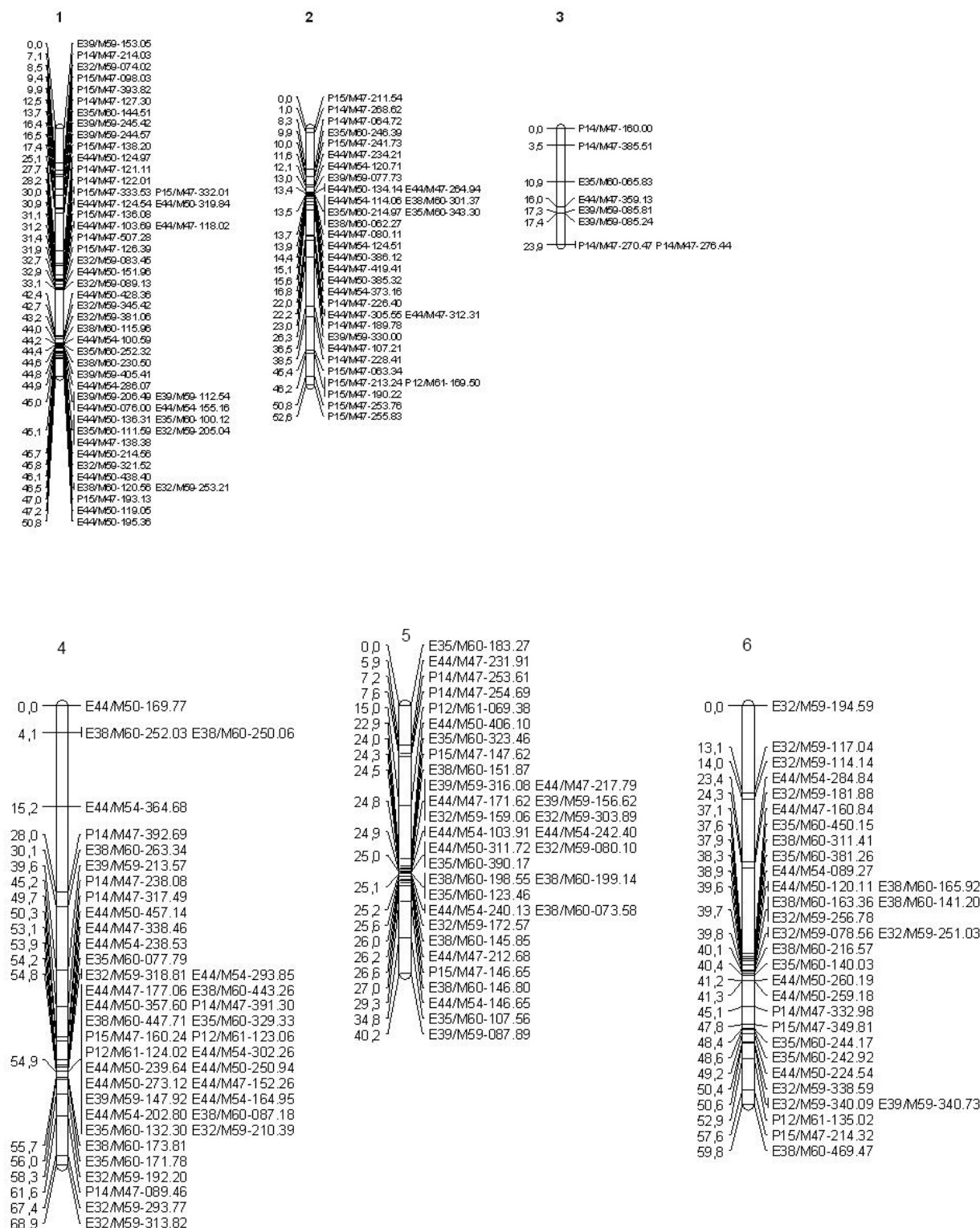
- distribution analysis. *Journal of Bacteriology* 189:377-387
- Hayward AC (1964) Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology* 27:265-277
- Hayward AC (1994) The hosts of *Pseudomonas solanacearum*. In: Hayward ACH, G.L. (ed) Bacterial wilt -The disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. CAB International, Wallingford, pp 9-24
- Hayward AC, El-Nashaar HM, Nydegger U, De Lindo L (1990) Variation in nitrate metabolism in biovars of *Pseudomonas solanacearum*. *Journal of Applied Bacteriology* 69:269-280
- He LY, Sequeira L, Kelman A (1983) Characteristics of strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. *Plant Disease* 67:1357-1361
- Kelman A, Sequeira L (1965) Root-to-root spread of *Pseudomonas solanacearum*. *Phytopathology* 55:304-309
- Lafortune D, Beramis M, Daubeze A, Boissot N, Palloix A (2005) Partial resistance of pepper to bacterial wilt is oligogenic and stable under tropical conditions. *Plant Disease* 89:501-506
- Lebeau A (2010) Résistance de la tomate, l'aubergine et le piment à *Ralstonia solanacearum* : interactions entre les géniteurs de résistance et la diversité bactérienne, caractérisation et cartographie des facteurs génétiques impliqués chez l'aubergine. Faculté des Sciences et Technologies. Université de la Réunion, Saint Denis de la Réunion
- Lebeau A, Daunay MC, Frary A, Palloix A, Wang JF, Dintinger J, Chiroleu F, Wicker E, Prior P (2011) Bacterial wilt resistance in tomato, pepper, and eggplant: genetic resources respond to diverse strains in the *Ralstonia solanacearum* species complex. *Phytopathology* 101:154-165
- Liu Y, Kanda A, Kiba A, Hikichi Y, Ohnishi K (2009) Distribution of avirulence genes *avrA* and *popP1* in 22 Japanese phylotype I strains of *Ralstonia solanacearum*. *Journal of general plant pathology* 75:362-368
- Macho AP, Guidot A, Barberis P, Beuzcon CR, Genin S (2010) A Competitive Index Assay Identifies Several *Ralstonia solanacearum* Type III Effector Mutant Strains with Reduced Fitness in Host Plants. *Molecular plant-microbe interactions : MPMI* 23:1197-1205
- Mahbou Somo Toukam G (2009) Diversité de *Ralstonia solanacearum* au Cameroun et bases génétiques de la résistance chez le piment (*Capsicum annum*) et les Solanacées. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Paris Institute of Biotechnology for life, food and environmental sciences (AgroParisTech), Paris, p 177
- OEPP/EPPO (2004) Normes OEPP - Systèmes de lutte nationaux réglementaires - PM9/3 *Ralstonia solanacearum* [EPPO Standards - National regulatory control systems - PM9/3 *Ralstonia solanacearum*]. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin* 34:327-329
- Pegg K, Moffett M (1971) Host range of the ginger strain of *Pseudomonas solanacearum* in Queensland. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry* 11:696-698
- Ponciano G, Ishihara H, Tsuyumu S, Leach JE (2003) Bacterial effectors in plant disease and defense: keys to durable resistance ? *Plant Disease* 87:1272-1282
- Poueymiro M, Genin S (2009) Secreted proteins from *Ralstonia solanacearum*: a hundred tricks to kill a plant. *Current Opinion in Microbiology* 12:44-52
- Poussier S (2000) Exploration de la diversité génétique de *Ralstonia solanacearum*, agent du flétrissement bactérien. Détection et dynamique des populations dans les réservoirs

- d'inoculum. Ecole Doctorale Vie-Agronomie-Santé. Rennes I, Rennes, p 149
- Poussier S, Thoquet P, Trigalet Demery D, Barthet S, Meyer D, Arlat M, Trigalet A (2003) Host plant-dependant phenotypic reversion of *Ralstonia solanacearum* from non-pathogenic to pathogenic forms via alterations in the *phcA* gene. *Molecular Microbiology* 49:991-1003
- R DCT (2010) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria
- Salanoubat M, Genin S, Artiguenave F, Gouzy J, Mangenot S, Arlat M, Billault A, Brottier P, Camus JC, Cattolico L, Chandler M, Choise N, Claudel Renard C, Cunnac S, Demange N, Gaspin C, Lavie M, Moisan A, Robert C, Saurin W, Schiex T, Siguier P, Thebault P, Whalen M, Wincker P, Levy Mea (2002) Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature (London)* 415:497-502
- Schell MA (2000) Control of virulence and pathogenicity genes of *Ralstonia solanacearum* by an elaborate sensory network. *Annual Review of Phytopathology* 38:263-292
- Tanksley SD, Wu FN, Eannetta NT, Xu YM (2009) A detailed synteny map of the eggplant genome based on conserved ortholog set II (COSII) markers. *Theoretical and Applied Genetics* 118:927-935
- Tans-Kersten J, Guan Y, Allen C (1998) *Ralstonia solanacearum* pectin methylesterase is required for growth on methylated pectin but not for bacterial wilt virulence. *Applied and Environmental Microbiology* 64:4918-4923
- Thoquet P, Olivier J, Sperisen C, Rogowsky P, Prior P, Anaïs G, B. M, Bazin B, Nazer R, Grimsley N (1996) Polygenic resistance of tomato plants to bacterial wilt in the French West Indies. 48 ref 9:837-842
- Vasse J, Danoun S, Trigalet A (2005) Microscopic studies of root infection in resistant tomato cultivar Hawaii7996. In: Allen C, Prior P, Hayward AC (eds) *Bacterial wilt disease and the Ralstonia solanacearum* species complex. APS Press, St Paul, pp 285-291
- Wang J, Olivier J, Thoquet P, Mangin B, Sauviac L, Grimsley N (2000) Resistance of tomato line Hawaii7996 to *Ralstonia solanacearum* Pss4 in Taiwan is controlled mainly by a major strain-specific locus. 48 ref 13:6-13
- Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, Mian D, Guilbaud C, Fegan M, Prior P (2007) *Ralstonia solanacearum* strains from Martinique (French west indies) exhibiting a new pathogenic potential. *Applied and environmental microbiology* 73:6790-6801
- Wicker E, Grassart L, Coranson-Beaudu R, Mian D, Prior P (2009) Epidemiological evidence for the emergence of a new pathogenic variant of *Ralstonia solanacearum* in Martinique (French West Indies). *Plant pathology* 58:853-861
- Wroblewski T, Caldwell KS, Piskurewicz U, Cavanaugh KA, Xu H, Kozik A, Ochoa O, Mc Hale LK, Lahre K, Jelenska J, Castillo JA, Blumenthal D, Vinatzer BA, Greenberg JT, Micheltore RW (2009) Comparative large-scale analysis of interactions between several crop species and the effector repertoires from multiple pathovars of *Pseudomonas* and *Ralstonia*. *Plant Physiology* 150:1733-1749
- Yabuuchi E, Kosako Y, Oyaizu H, Yano I, Hotta H, Hashimoto Y, Ezaki T, Arakawa M (1992) Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Palleroni and Holmes 1981) comb. nov. *Microbiol Immunol* 36:1251-1275
- Yabuuchi E, Kosako Y, Yano I, Hotta H, Nishiuchi Y (1995) Transfer of two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov. and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. *Microbiol Immunol*

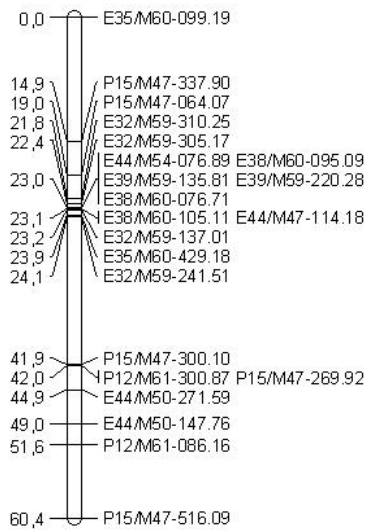
- 39:897-904
- Yao J, Allen C (2003) Role of chemotactic ability in virulence of *Ralstonia solanacearum* on tomato. *Phytopathology* 93:S93
- Yao J, Allen C (2006) Chemotaxis is required for virulence and competitive fitness of the bacterial wilt pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Bacteriology* 188:3697-3708
- Yao J, Allen C (2007) The plant pathogen *Ralstonia solanacearum* needs aerotaxis for normal biofilm formation and interactions with its tomato host. *Journal of Bacteriology* 189:6415-6424
- Yu J (1999) Allelopathic suppression of *Pseudomonas solanacearum* infection of tomato (*Lycopersicon esculentum*) in a tomato-Chinese chive (*Allium tuberosum*) intercropping system. *Journal of Chemical Ecology* 25:2409-2417

ANNEXES

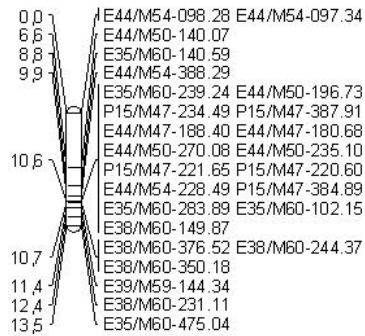
ANNEXE 1. Carte génétique de MM195 x MM738



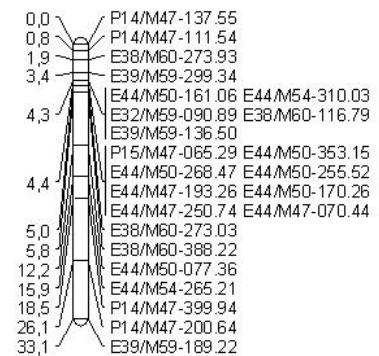
7



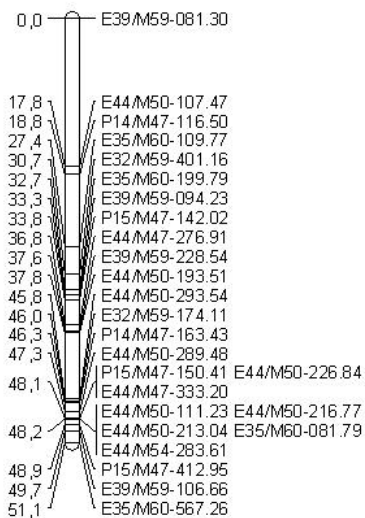
8



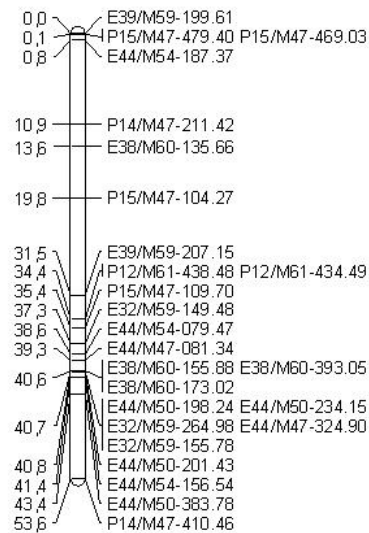
9



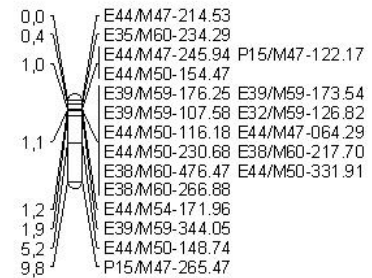
10



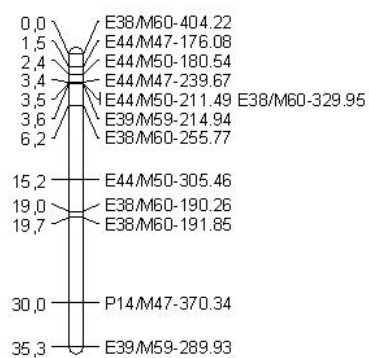
11



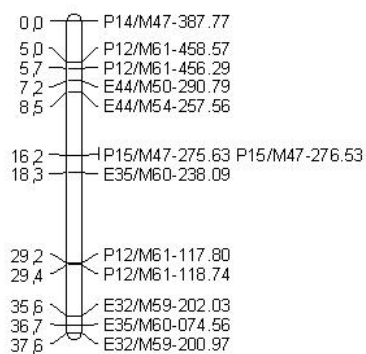
12



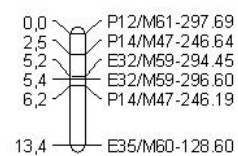
13



14







15



ANNEXE 2. Tableaux récapitulatifs des variables et des QTLs

Tableau 1. Moyennes des parents et des descendants issus de MM195 (P2) x MM738 (P1) ainsi que des composantes de la variance et de l'héritabilité pour le pourcentage de flétrissement (W), l'indice de colonisation (IC), l'AUDPC du score (SCO_{AUDPC}) et du flétrissement (W_{AUDPC}) utilisés pour l'étude de la résistance face à deux souches du phylotype I (GMI1000 et PSS4) de *R. solanacearum*.

		Moyenne ^a												Variances ^b					Ic _{P=90%} ^d		
		P1		P2		F ₁		F ₂		BC ₁ P1		BC ₁ P2		F ₃							
GMI1000	SCO _{18j}	0.2	(0.1)	1.8	(0.3)	0.4	(0.2)	1	(0.3)	0.5	(0.5)	1.3	(0.6)	1	(0.1)	0.2***	-	0.2	0.65	-	
	W _{18j} (%)	6.3	(3)	63.8	(7)	21.4	(7.1)	36.3	(7.3)	13.6	(13.6)	41.6	(14.9)	31.6	(1.5)	116.9***	-	127.2	0.65	-	
	SCO _{32d}	0.3	(0.1)	3.3	(0.2)	1.4	(0.2)	1.9	(0.2)	1.1	(0.8)	1.9	(0.5)	1.6	(0.1)	0.2**	-	0.3	0.53	-	
	W _{32j} (%)	7.6	(3.1)	84.3	(6.5)	46.4	(10.7)	51.9	(4.5)	32.8	(21.7)	49.9	(13.2)	43.1	(1.7)	108.8**	-	215.8	0.50	-	
	SCO _M	0.3	(0.1)	3.3	(0.3)	1.4	(0.2)	1.9	(0.2)	1.1	(0.9)	2	(0.4)	1.6	(0.1)	0.2***	-	0.3	0.52	-	
	W _M (%)	6.3	(3)	84.3	(6.5)	42.9	(7.1)	53.2	(3.2)	32.8	(21.7)	55.4	(12)	42.4	(1.7)	132.5***	-	181.4	0.59	-	
	IC (%)	14.7	(3)	88.6	(4.3)	46.4	(3.6)	59.7	(4.4)	38.4	(16.2)	61.4	(14.7)	49.7	(1.7)	109.5**	-	184.8	0.54	-	
	SCO _{AUDPC}	0	(0)	2	(0)	1	(0)	1	(0)	1	(1)	1	(0)	1	(0)	0.1***	-	0.1	0.65	-	
PSS4	W _{AUDPC} (%)	5	(2)	55	(5)	21	(0)	32	(5)	18	(14)	34	(10)	27	(1)	77.5***	-	81.1	0.66	-	
	S1 ^e	SCO _{20j}	1.5	(0.2)	3.6	(0.2)	2.8	(0.4)	3	(0.2)	2.7	(0.3)	3.2	(0.1)	2.4	(0.1)	0.3***	-	0.2	0.71	-
		W _{20j} (%)	37.5	(5.1)	91.2	(3.8)	70	(10)	77.3	(6.1)	71.1	(5.6)	81.7	(1.7)	61	(1.8)	160.1***	-	137.8	0.70	-
		W _M (%)	70	(6.8)	97.4	(1.5)	90	(5)	95	(1.6)	89.8	(0.2)	93.3	(0)	86.3	(1.2)	32.4*	-	100.1	0.39	-
		IC (%)	81.2	(3.8)	97.4	(1.5)	95	(5)	97.5	(0.8)	93.2	(3.5)	96.7	(3.3)	89.3	(1.1)	NS	-	89.8	0.19	-
	S2 ^e	SCO _{AUDPC}	2	(0)	3	(0)	2	(0)	3	(0)	2	(0)	3	(0)	2	(0)	0.1***	-	0.1	0.66	-
		W _{AUDPC} (%)	38	(8)	76	(4)	62	(5)	68	(3)	60	(4)	70	(3)	57	(1)	64.9***	-	69.6	0.65	-
		SCO _{20j}	1.1	(0.1)	3.2	(0.3)	3.2	(0.8)	2.6	(0.2)	2.4	(0.3)	2.7	(0.6)	2.2	(0.1)	0.2***	-	0.3	0.57	-
		W _{20j} (%)	27.5	(2.6)	81.5	(7.5)	78.9	(21.1)	65.5	(6.2)	63.9	(2.8)	70	(16.7)	58.4	(1.7)	108.8***	-	164.1	0.57	-
	Comb. ^e	W _M (%)	53.4	(5.9)	92.6	(1.3)	92.1	(7.9)	89	(7.7)	88.9	(11.1)	86.7	(6.7)	81.5	(1.4)	67.2***	-	93.8	0.59	-
		IC (%)	60.2	(7.6)	94	(0.4)	94.7	(5.3)	90.7	(6)	91.7	(8.3)	90	(6.7)	84.7	(1.2)	50.1***	-	71.3	0.58	-
		SCO _{AUDPC}	1	(0)	3	(0)	3	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	0.1***	-	0.1	0.64	-
		W _{AUDPC} (%)	29	(1)	64	(4)	66	(10)	56	(7)	54	(8)	56	(10)	49	(1)	44.6***	-	50.8	0.64	-
	Comb. ^e	SCO _{20j}	1.3	(0.1)	3.4	(0.2)	3	(0.4)	2.8	(0.2)	2.6	(0.2)	2.9	(0.3)	2.3	(0)	0.2***	NS	0.5	0.61	0.51-0.68
		W _{20j} (%)	32.5	(3.3)	86.4	(4.3)	74.5	(9.9)	71.4	(4.9)	67.5	(3.3)	75.8	(7.6)	59.7	(1.2)	94.2**	NS	317.2	0.62	0.52-0.69
		W _M (%)	61.7	(5.2)	95	(1.3)	91.1	(3.9)	92	(3.6)	89.4	(4.5)	90	(3.3)	83.9	(0.9)	45.6*	NS	200.7	0.63	0.54-0.70
IC (%)		70.7	(5.6)	95.7	(1)	94.9	(3)	94.1	(3.1)	92.4	(3.7)	93.3	(3.6)	87	(0.8)	NS	NS	165.3	0.55	0.43-0.63	
SCO _{AUDPC}		1	(0)	3	(0)	3	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	2	(0)	0.1**	NS	0.2	0.66	0.57-0.72	
	W _{AUDPC} (%)	34	(4)	70	(4)	64	(5)	62	(5)	57	(4)	63	(6)	53	(1)	41.3*	NS	155.2	0.66	0.57-0.72	

^a L'erreur standard est donnée entre parenthèses.

^b σ^2_F , $\sigma^2_{F \times S}$, σ^2_R : sont les estimateurs respectifs des variances entre les familles, de l'interaction familles x saison et des résidus.

Tous les σ^2 étaient significatifs pour $P < 0.001$.

^c h^2 : héritabilité au sens large.

^d Ci_{P=90%} : intervalle de confiance à 90% pour h^2 .

^e S1: saison 1, S2: saison 2, Comb.: saisons combinées.

Tableau 2. Moyennes des témoins et des parents.

		Moyenne ^a												
		E1		E3		E6		MM127		MM134		E10		
GMI1000	SCO _{18j}	0.3	(0.3)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0.5	(0.3)	
	W _{18j} (%)	10	(10)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	28.8	(8.8)	
	SCO _{32j}	0.4	(0.4)	0	(0)	0	(0)	0.1	(0.1)	0	(0)	2	(0.4)	
	W _{32j} (%)	10	(10)	0	(0)	0	(0)	2	(2)	0	(0)	71.2	(8.8)	
	SCO _M	0.4	(0.4)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	2.1	(0.3)	
	W _M (%)	10	(10)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	65	(15)	
	IC (%)	10	(10)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	71.2	(8.8)	
	SCO _{AUDPC}	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	1	(0)	
	W _{AUDPC} (%)	6	(6)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	35	(3)	
PSS4	S1 ^e	SCO _{20j}	0	(0)	0.4	(0.4)	2.4	(0.8)	-	-	-	-	4	(0)
		W _{20j} (%)	0	(0)	10	(10)	60	(20)	-	-	-	-	100	(0)
		W _M (%)	0	(0)	20	(20)	90	(10)	-	-	-	-	100	(0)
		IC (%)	40	(20)	40	(0)	100	(0)	-	-	-	-	100	(0)
		SCO _{AUDPC}	0	(0)	0	(0)	2	(0)	-	-	-	-	3	(0)
		W _{AUDPC} (%)	0	(0)	10	(10)	60	(4)	-	-	-	-	80	(3)
	S2	SCO _{20j}	0.4	(0.4)	0.4	(0.4)	1.4	(0.6)	-	-	-	-	3.1	(0.1)
		W _{20j} (%)	10	(10)	10	(10)	40	(20)	-	-	-	-	80	(0)
		W _M (%)	20	(20)	20	(20)	60	(20)	-	-	-	-	90	(10)
		IC (%)	30	(10)	40	(20)	60	(20)	-	-	-	-	90	(10)
		SCO _{AUDPC}	0	(0)	0	(0)	1	(1)	-	-	-	-	2	(0)
		W _{AUDPC} (%)	8	(8)	10	(10)	39	(15)	-	-	-	-	63	(6)
	Comb.	SCO _{20j}	0.2	(0.2)	0.4	(0.2)	1.9	(0.5)	-	-	-	-	3.5	(0.3)
		W _{20j} (%)	5	(5)	10	(5.8)	50	(12.9)	-	-	-	-	90	(5.8)
		W _M (%)	10	(10)	20	(11.5)	75	(12.6)	-	-	-	-	95	(5)
		IC (%)	35	(9.6)	40	(8.2)	80	(14.1)	-	-	-	-	95	(5)
		SCO _{AUDPC}	0	(0)	0	(0)	2	(0)	-	-	-	-	3	(0)
		W _{AUDPC} (%)	4	(4)	10	(6)	50	(9)	-	-	-	-	72	(6)

^a L'erreur standard est donnée entre parenthèses.

Tableau 3. QTLs détectés pour la résistance aux souches du phylotype I GMI1000 et PSS4 de *R. solanacearum* basés sur l'analyse en CIM dans la population F3 dérivée du croisement entre MM738 et MM195.

Souche		Variable	LG ^a	QTL		LOD ^c	CIM			
				Position (cM) ^b	Marqueurs		R^2 ^d	a^e	d	
GMI1000		SCO _{18j}	12	8 (6-8)	342-343	6.6	44.4	-0.7**	-0.5*	
			14	2 (0-6)	357-358	5.8	38.1	-0.3**	NS	
		Total R^2					34.6			
		W _{18j} (%)	9	6 (4-12)	266-267	5.0	33.2	NS	NS	
		Total R^2					7.9			
		SCO _{32j}	9	6 (4-10)	266-267	8.3	49.0	-0.8**	NS	
			9	26 (22-32)	269-270	6.5	40.6	0.5**	NS	
		Total R^2					43.2			
		W _{32j} (%)	9	6 (4-10)	266-267	6.0	38.5	-9.1**	NS	
		Total R^2					14.5			
		W _M (%)	9	6 (4-8)	266-267	6.8	42.2	-16.0**	NS	
			9	30 (26-32)	270-271	7.3	47.0	11.8**	NS	
			14	2 (2-6)	357-358	6.0	39.2	-7.7**	NS	
		Total R^2					49.0			
		SCO _{AUDPC}	9	6 (4-10)	266-267	7.1	43.6	-0.2*	NS	
		Total R^2					12.9			
W _{AUDPC} (%)	9	6 (4-10)	266-267	6.5	40.9	-5.8*	NS			
Total R^2					13.0					
PSS4	S1	SCO _{20j}	6	40 (38-42)	182-185	6.3	38.2	-0.3**	NS	
			15	12 (8-12)	374-375	5.9	36.3	NS	0.3*	
		Total R^2					25.5			
		W _{20j} (%)	6	48 (46-50)	190-191	8.7	48.5	-8.6**	NS	
			9	4 (2-6)	251-252	5.7	35.5	-7.2**	NS	
			15	10 (6-12)	374-375	7.1	42	NS	8.4*	
		Total R^2					38.8			
		W _M (%)	-	-	-	-	-	-	-	
		Total R^2					-			
		SCO _{AUDPC}	6	46 (44-50)	189-190	7.0	41.6	-0.3**	NS	
			9	4 (2-6)	251-252	5.8	35.9	-0.2**	NS	
			15	12 (6-12)	374-375	6.2	37.9	NS	0.3**	
		Total R^2					44.8			
		W _{AUDPC} (%)	6	46 (44-50)	189-190	7.0	41.6	-6.7**	NS	
			9	4 (2-6)	251-252	6.0	36.8	-4.9**	NS	
			15	12 (6-12)	374-375	6.2	37.8	NS	6.2**	
		Total R^2					44.4			
		S2	SCO _{20j}	2	0 (0-2)	52-53	9.5	55.5	-0.4**	NS
				2	12 (10-14)	57-58	9.0	49.7	0.7**	NS
				3	12 (8-18)	88-89	7.8	44.9	-0.4**	NS
			6	58 (56-58)	198-199	8.5	47.8	-0.3**	NS	
	Total R^2						44.5			
	W _{20j} (%)		2	0 (0-2)	52-53	8.7	52.5	-10.7**	NS	
			2	12 (10-14)	57-58	12.2	60.9	16.2**	NS	
			3	12 (8-14)	88-89	11.7	59.4	-9.1**	NS	
			4	38 (30-44)	99-100	5.0	31.9	NS	NS	
			6	58 (56-58)	198-199	11.4	58.3	-7.3**	NS	
	Total R^2						42.0			
	W _M (%)		1	34 (32-38)	25-26	6.2	38.0	NS	NS	
			7	18 (14-22)	201-202	5.4	33.9	NS	NS	
			9	4 (2-6)	251-252	6.7	41.5	-6.5**	NS	
			13	30 (28-34)	355-356	5.4	36.5	NS	NS	
	Total R^2						18.4			
	SCO _{AUDPC}		2	0 (0-2)	52-53	5.0	34.4	-0.2**	NS	
			2	12 (10-14)	57-58	7.8	45.2	0.4**	NS	
			3	12 (8-16)	88-89	8.3	47.0	-0.2**	NS	
			6	58 (56-58)	198-199	5.7	35.6	-0.2**	NS	
		14	0 (0-6)	357-358	5.4	34.5	NS	NS		
	Total R^2					48.8				
	W _{AUDPC} (%)	2	0 (0-2)	52-53	5.0	34.7	-8.3**	NS		
	2	12 (10-14)	57-58	8.2	46.5	11.9**	NS			
	3	12 (8-16)	88-89	8.3	47.4	-6.0**	NS			
	6	58 (56-58)	198-199	5.5	34.3	-4.5**	NS			
	11	36 (34-40)	308-309	5.1	32.2	-5.4**	NS			

Souche	Variable	LG ^a	QTL		LOD ^c	CIM		
			Position (cM) ^b	Marqueurs		R^2 ^d	a^e	d
Comb	Total R^2	14	0 (0-6)	357-358	5.5	34.7	-2.4*	-4.3*
	SCO _{20j}	2	16 (14-18)	71-72	6.2	60.4	0.3**	NS
		2	34 (30-38)	77-78	10.1	53.9	-0.4**	-0.3*
		6	48 (46-50)	190-191	5.9	36.5	-0.2**	NS
		10	0 (0-6)	272-273	6.5	41.9	0.3**	NS
		11	38 (36-40)	309-310	5.2	33.0	NS	NS
		15	2 (0-6)	370-371	6.5	42.4	-0.3**	0.2*
	Total R^2					59.1		
	W _{20j} (%)	2	34 (30-38)	77-78	6.9	41.0	NS	-10.7**
	Total R^2					14.2		
	W _M (%)	2	34 (30-38)	77-78	5.8	35.9	NS	-8.0**
		9	10 (6-14)	266-267	5.0	31.8	-3.6*	NS
	Total R^2					21.9		
	SCO _{AUDPC}	2	34 (32-38)	77-78	7.6	44.4	-0.1*	-0.2*
		6	0 (0-6)	168-169	6.6	40.8	NS	NS
		6	48 (46-50)	190-191	10.5	55.2	-0.2**	NS
		9	4 (2-6)	251-252	8.5	48.0	-0.2**	NS
		15	6 (4-10)	373-374	7.3	42.9	-0.1*	0.2*
	Total R^2					52.7		
	W _{AUDPC} (%)	2	12 (10-14)	57-58	5.6	35.1	5.5**	NS
		2	36 (32-38)	77-78	5.2	32.9	-4.8**	-3.9*
		4	40 (36-44)	100-101	6.4	38.7	NS	NS
		6	48 (46-50)	190-191	15.2	68.8	-4.1**	NS
		9	4 (2-6)	251-252	7.4	43.3	-3.0*	3.7*
		15	6 (4-8)	373-374	5.5	34.6	NS	NS
	Total R^2					62.5		

^a LG, Groupe de liaison.

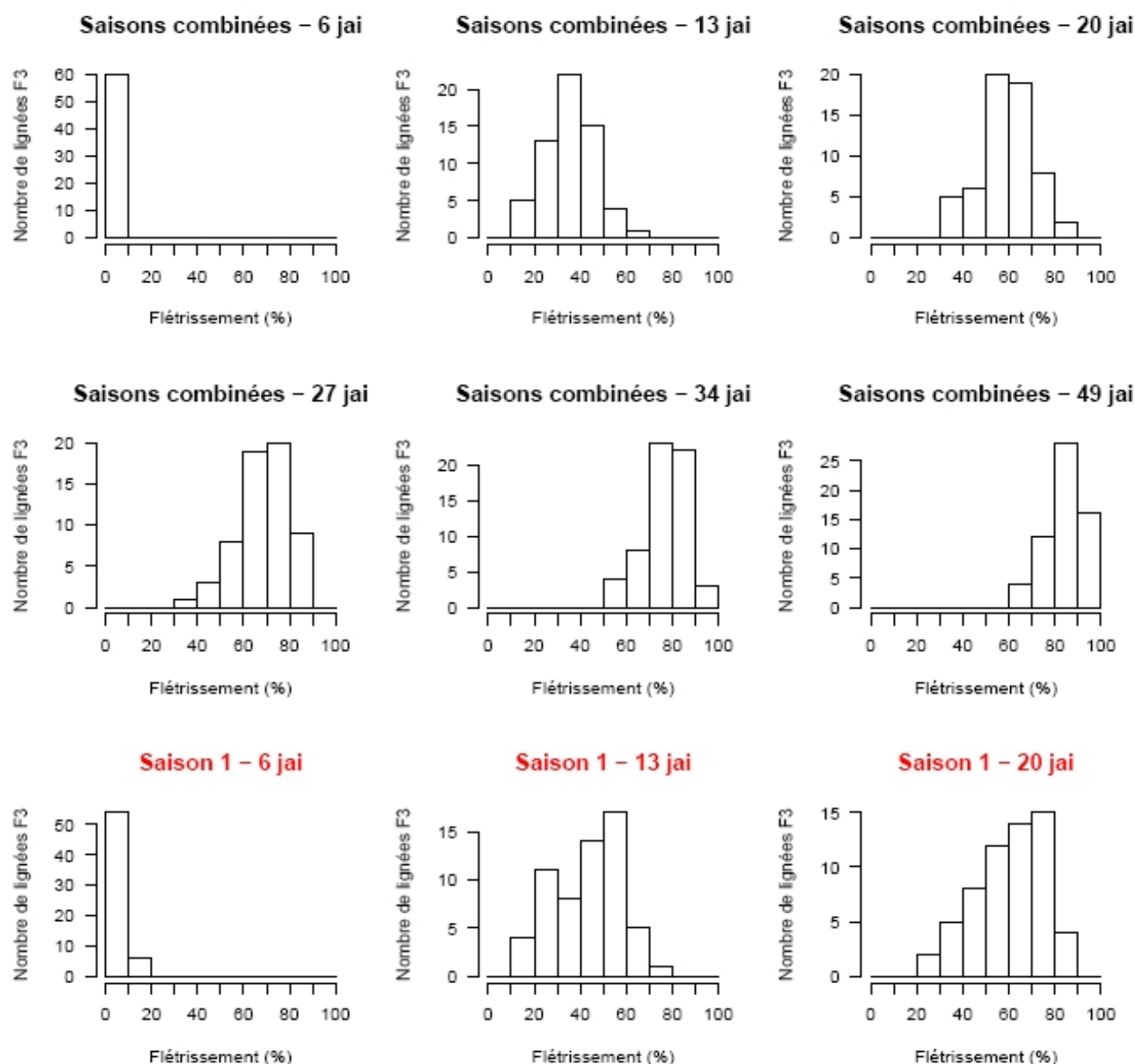
^b Position du QTL sur le groupe de liaison et intervalle de confiance donné entre parenthèses.

^c LOD, valeur du maximum de vraisemblance pour l'intervalle donné par les marqueurs (les valeurs sont supérieures au seuil du LOD : 4 pour la CIM).

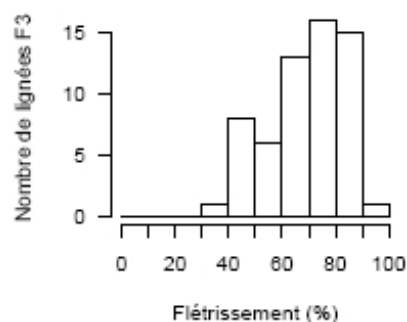
ANNEXE 3. Histogrammes des classes de fréquence sur les variables de maladie au cours du temps

1. PSS4

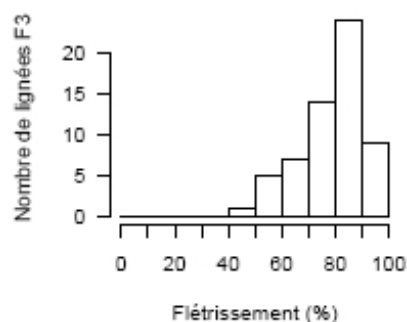
a. Incidence de Flétrissement moyenne (W)



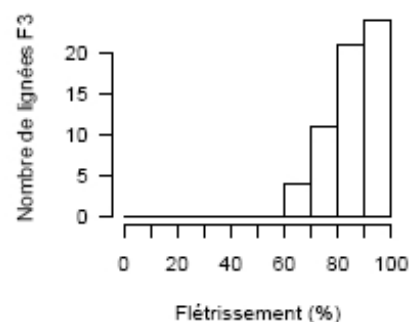
Saison 1 – 27 jai



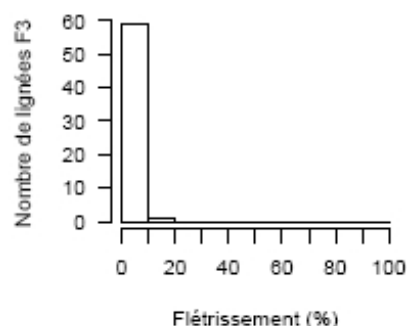
Saison 1 – 34 jai



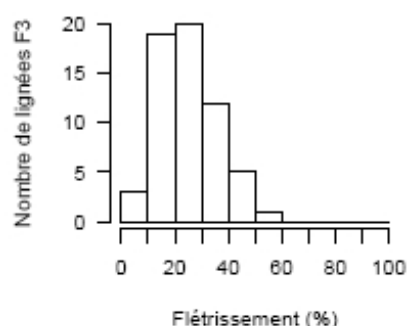
Saison 1 – 49 jai



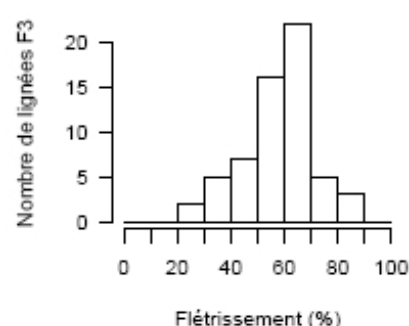
Saison 2 – 6 jai



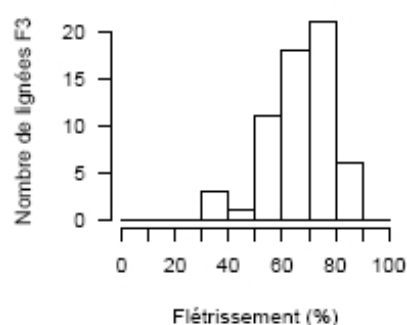
Saison 2 – 13 jai



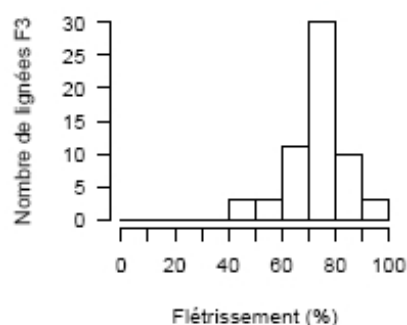
Saison 2 – 20 jai



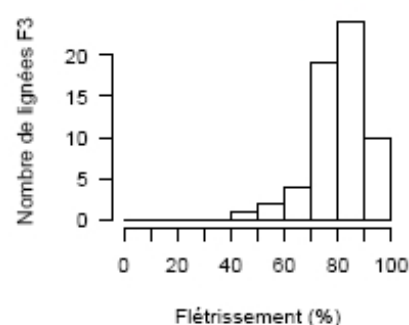
Saison 2 – 27 jai



Saison 2 – 34 jai

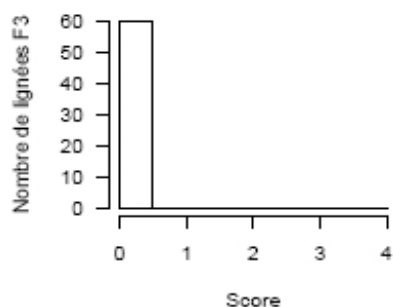


Saison 2 – 49 jai

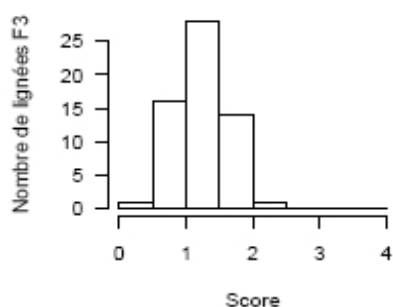


b. Score moyen

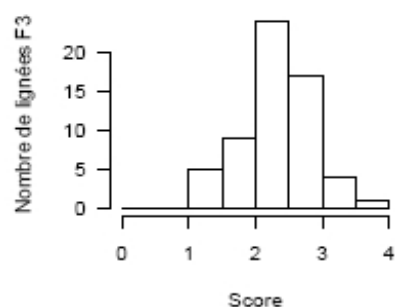
Saisons combinées – 6 jai



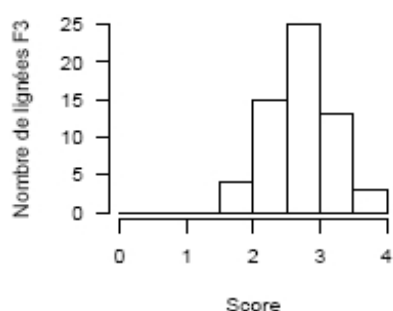
Saisons combinées – 13 jai



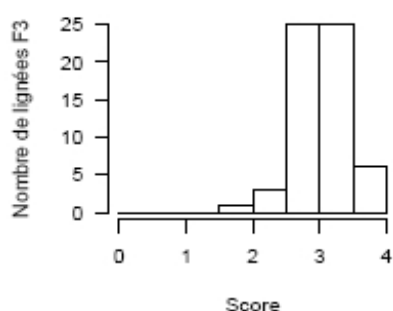
Saisons combinées – 20 jai



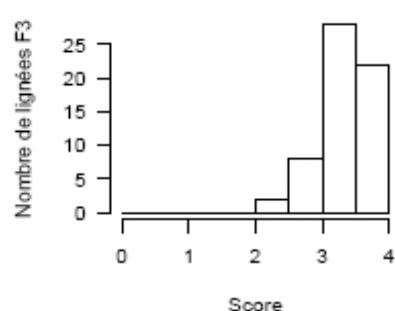
Saisons combinées – 27 jai



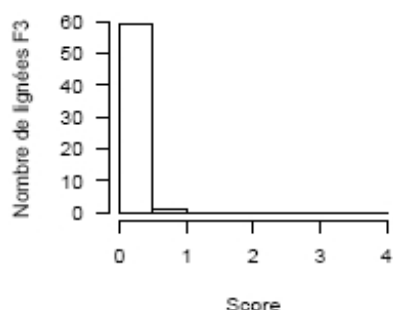
Saisons combinées – 34 jai



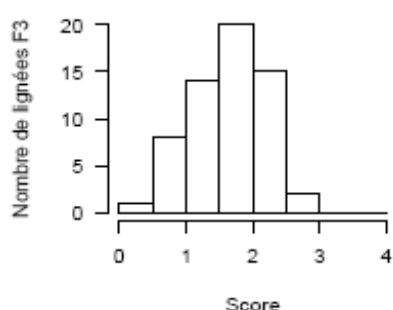
Saisons combinées – 49 jai



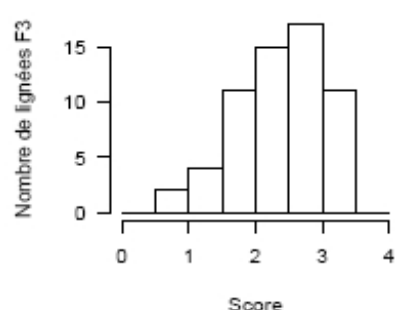
Saison 1 – 6 jai



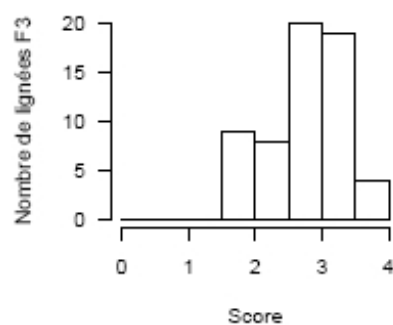
Saison 1 – 13 jai



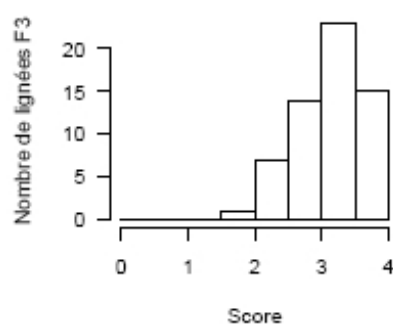
Saison 1 – 20 jai



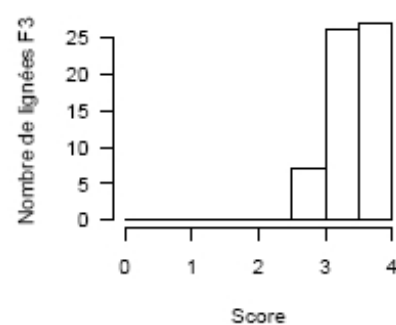
Saison 1 – 27 jai



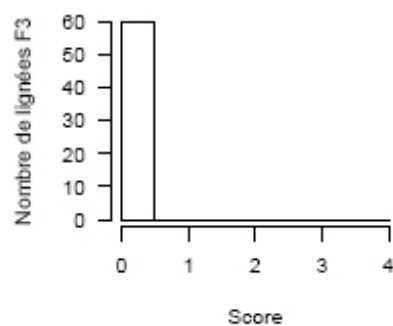
Saison 1 – 34 jai



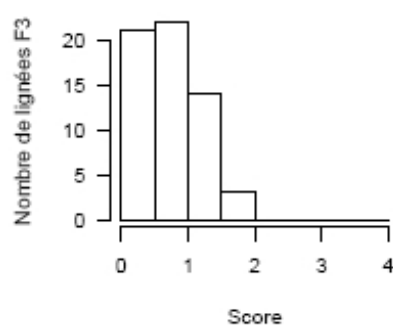
Saison 1 – 49 jai



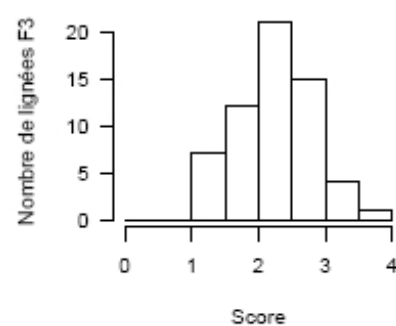
Saison 2 – 6 jai



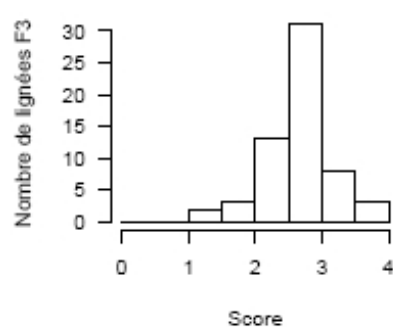
Saison 2 – 13 jai



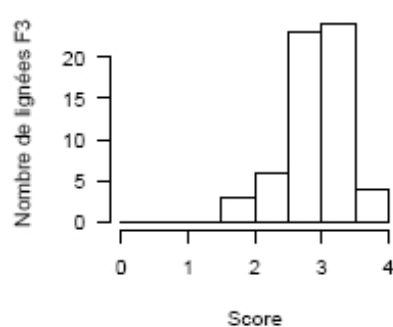
Saison 2 – 20 jai



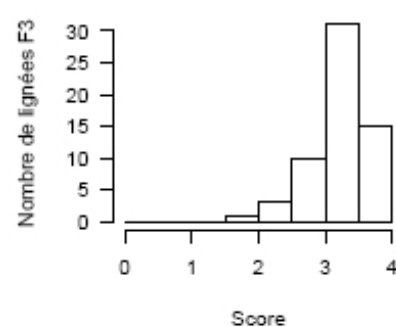
Saison 2 – 27 jai



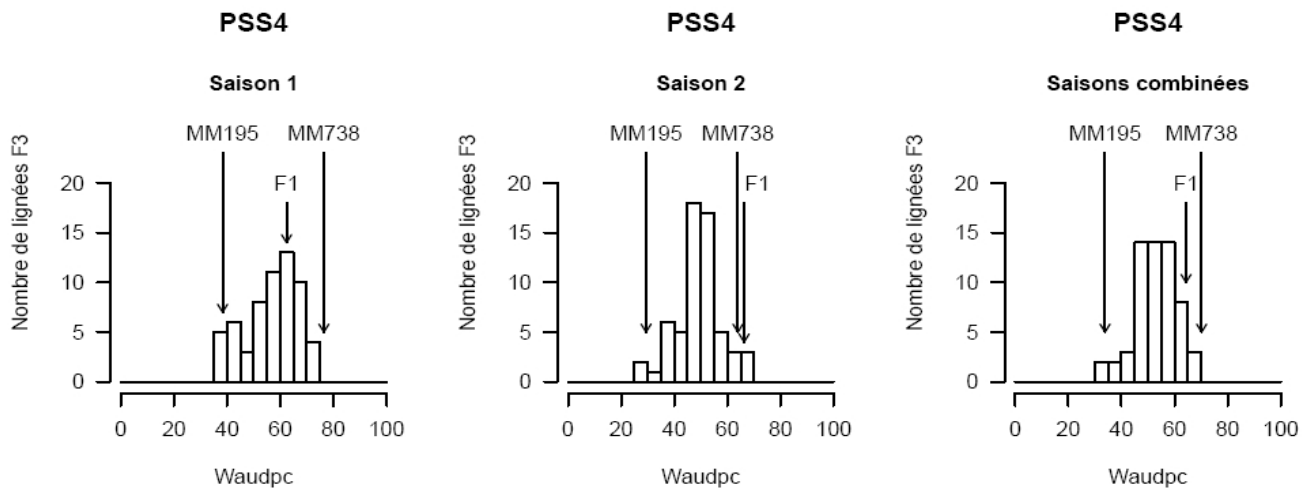
Saison 2 – 34 jai



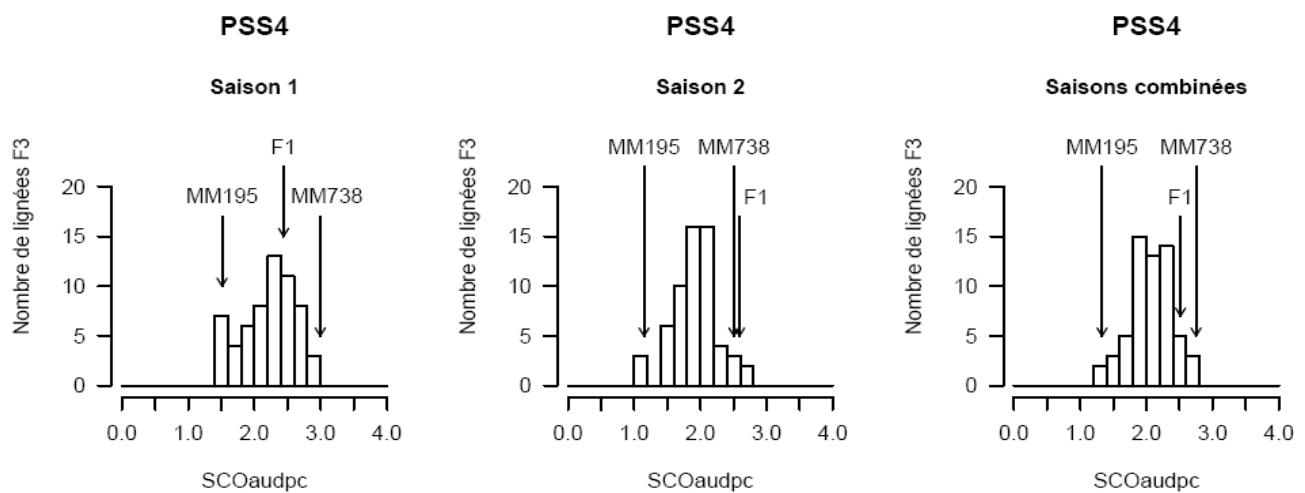
Saison 2 – 49 jai



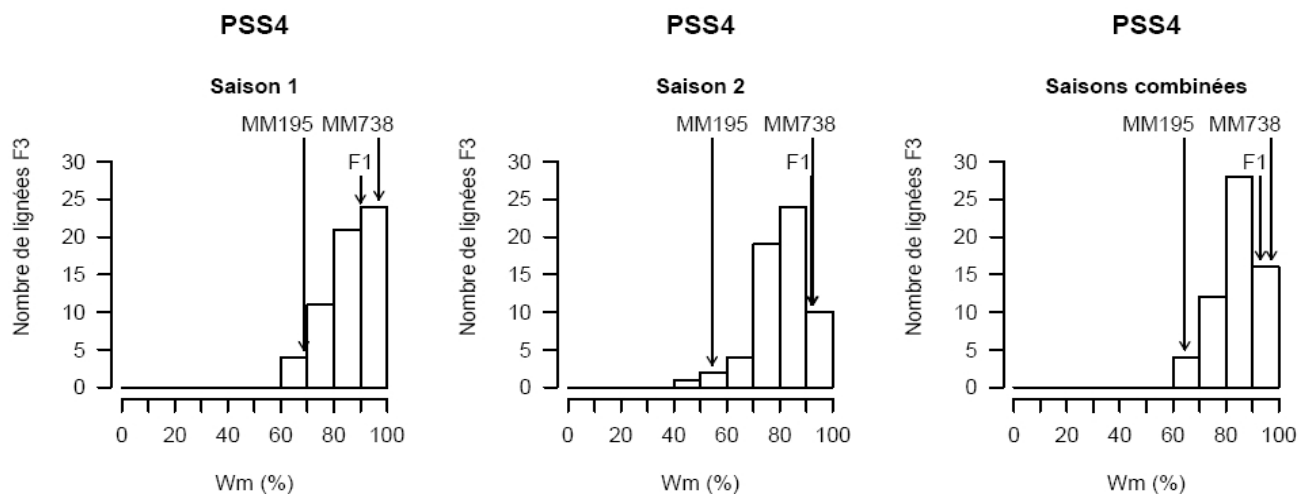
c. W_{AUDPC} moyen



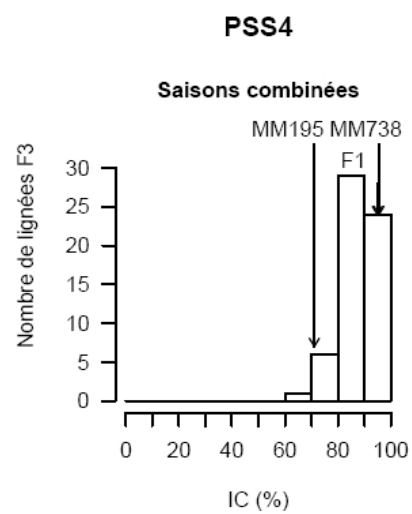
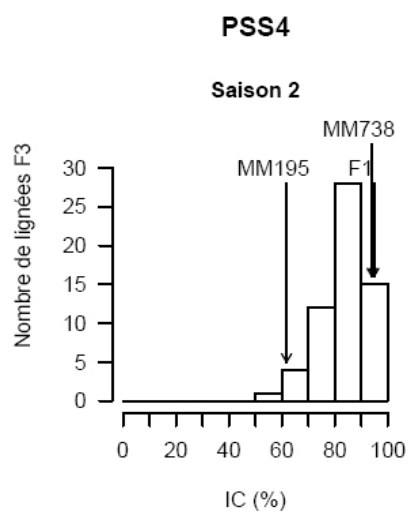
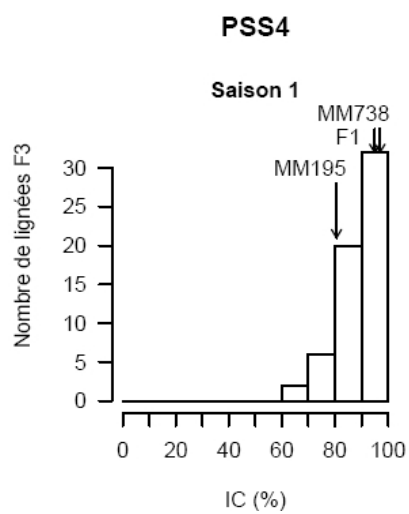
d. $SCORE_{AUDPC}$ moyen



e. W_{max} moyen



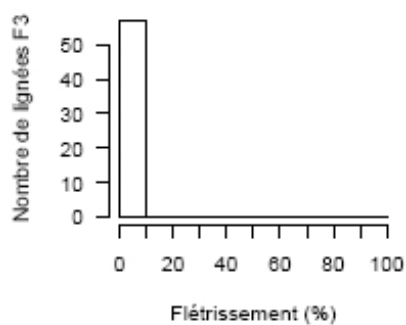
f. IC moyen



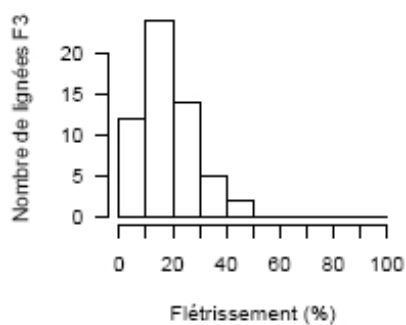
2. GMI1000

a. W moyen

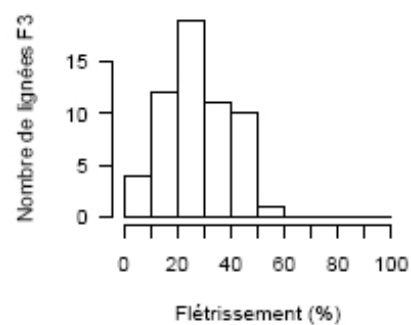
Saison 1 – 6 jai



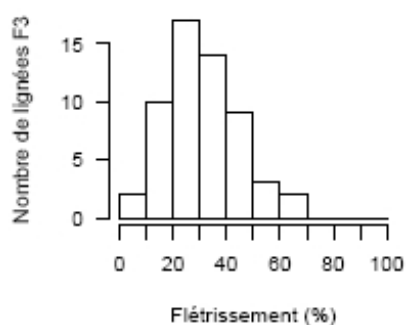
Saison 1 – 11 jai



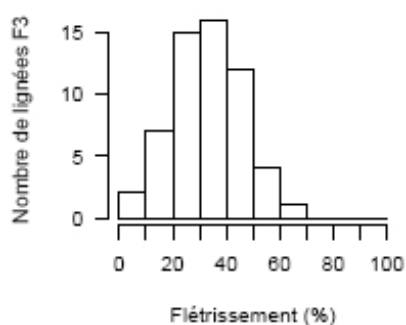
Saison 1 – 14 jai



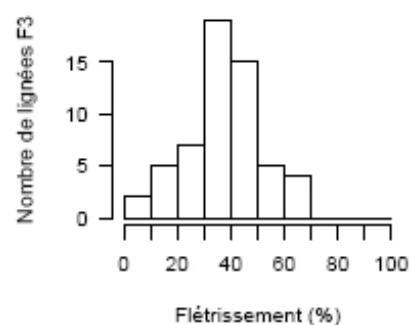
Saison 1 – 18 jai



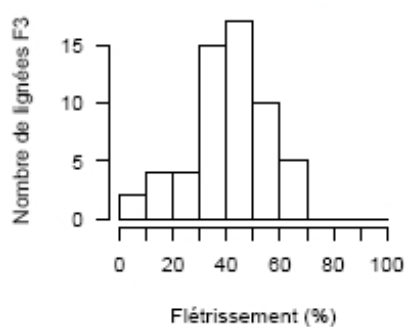
Saison 1 – 21 jai



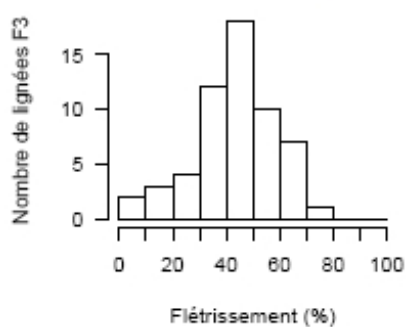
Saison 1 – 25 jai



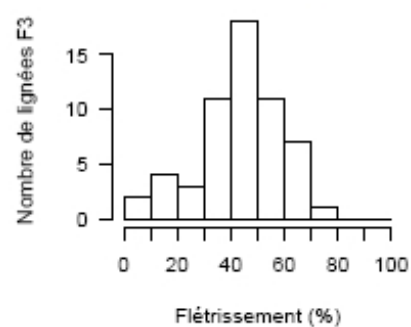
Saison 1 – 28 jai



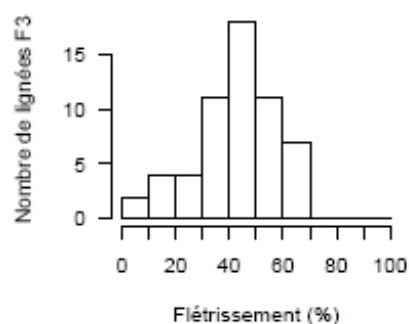
Saison 1 – 32 jai



Saison 1 – 35 jai

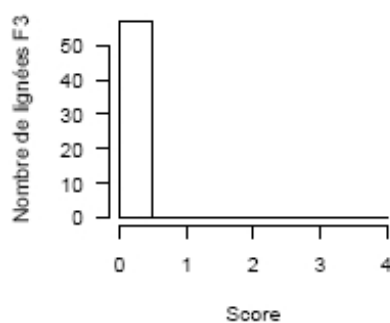


Saison 1 – 39 jai

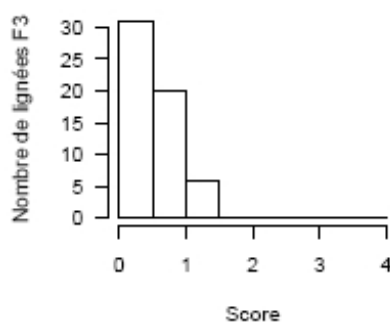


b. Score moyen

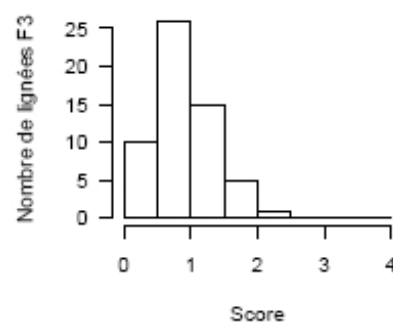
Saison 1 – 6 jai



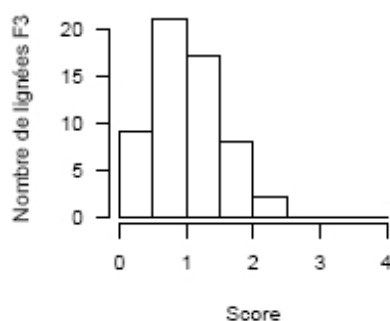
Saison 1 – 11 jai



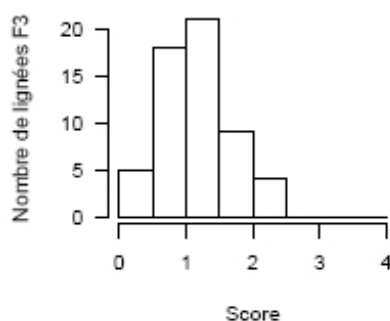
Saison 1 – 14 jai



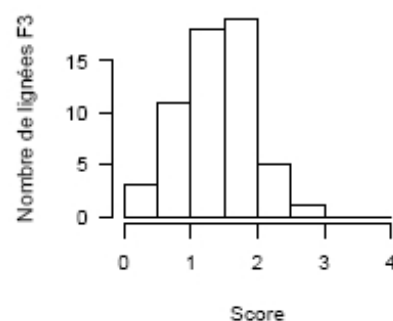
Saison 1 – 18 jai



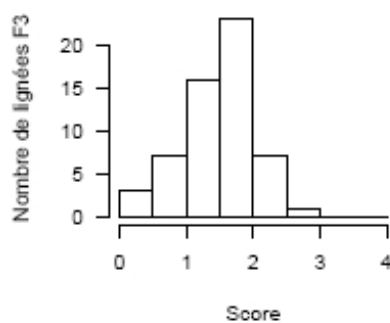
Saison 1 – 21 jai



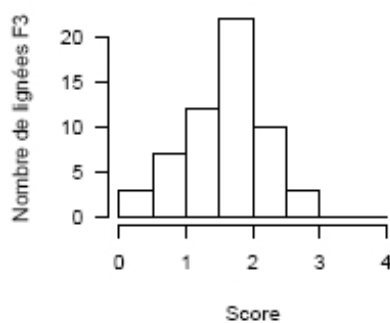
Saison 1 – 25 jai



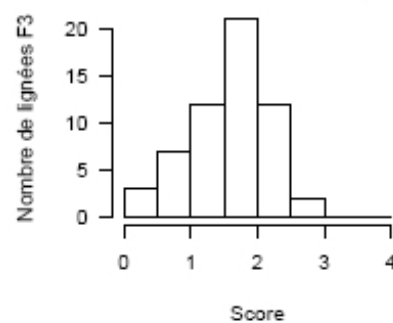
Saison 1 – 28 jai



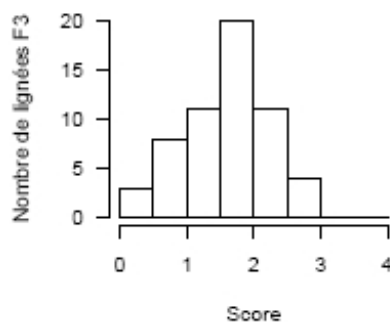
Saison 1 – 32 jai



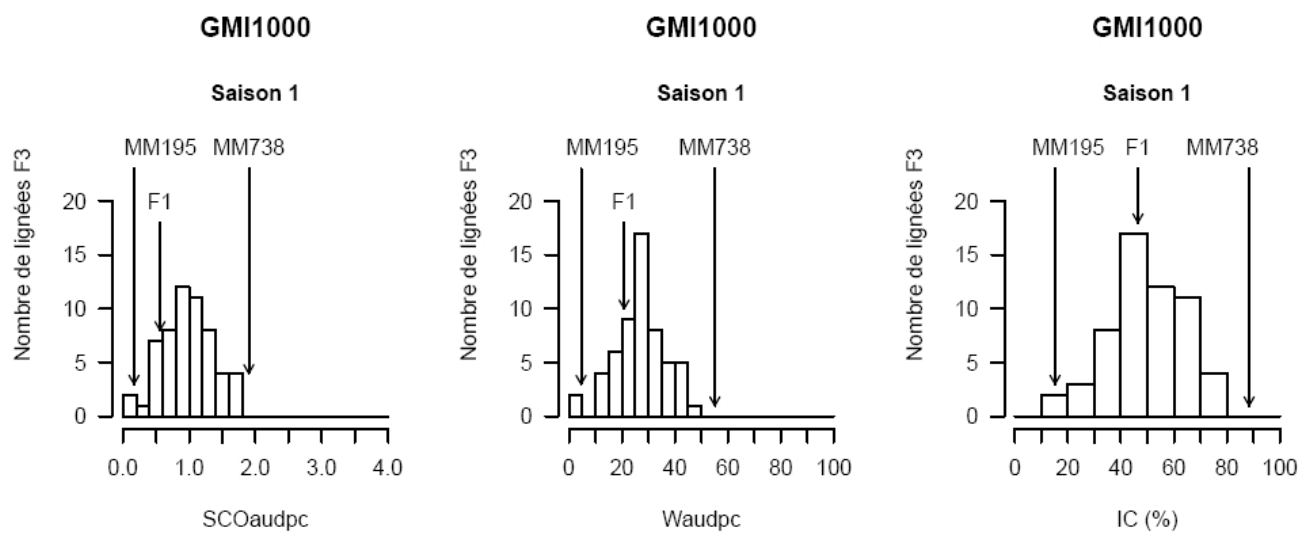
Saison 1 – 35 jai



Saison 1 – 39 jai



c. Score_{AUDPC}, W_{AUDPC} et IC



ANNEXE 4

Analyse des résultats du test HR

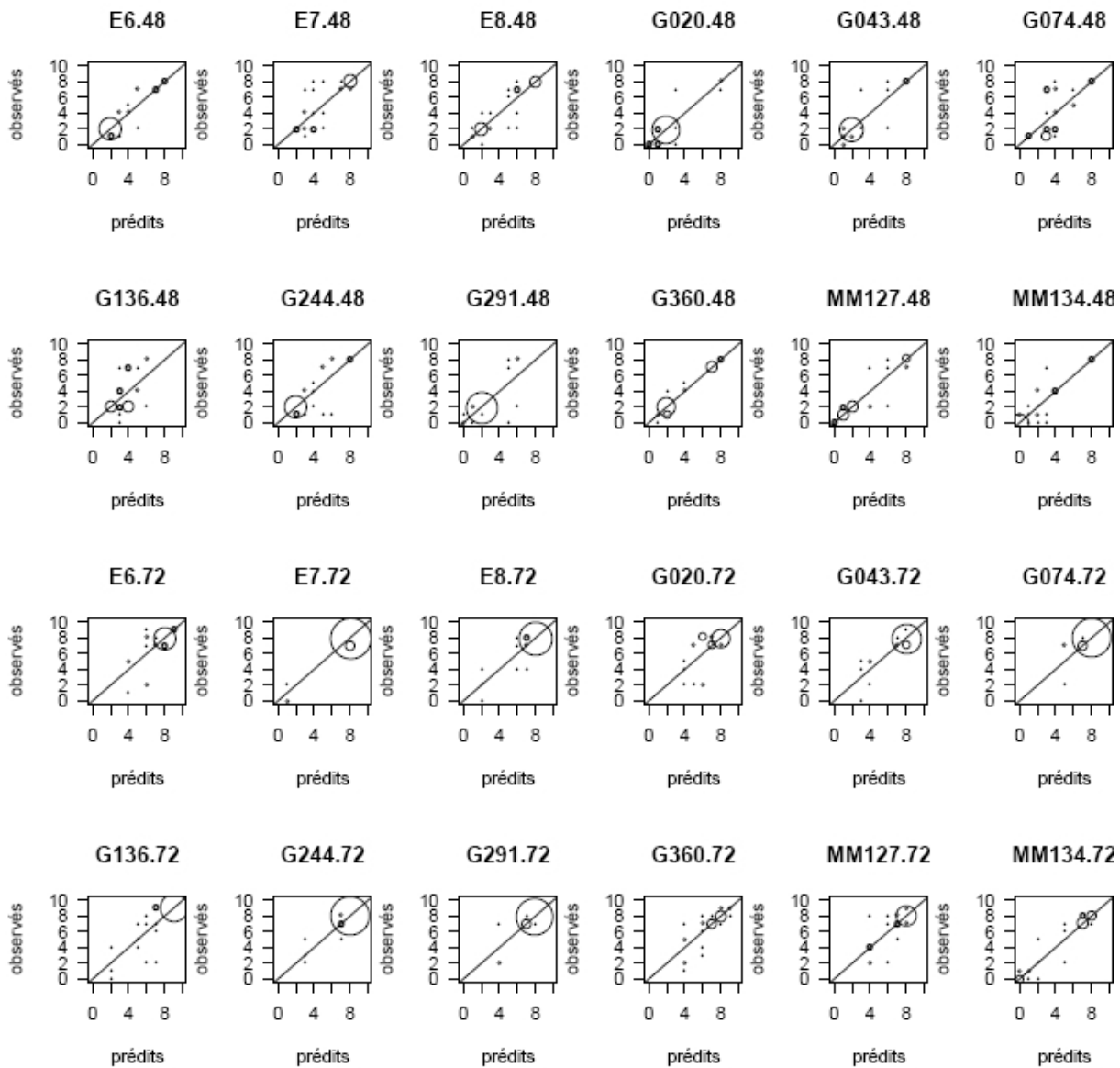


Figure 1. Evaluation de l'adéquation des observations à une loi de Poisson : corrélation valeurs prédites (x) / valeurs observées (y)

	Phylotype		I	I	I	I	II	II	II	III	III	III
	Allèle		1	3	-	i	1	3	-	1	3	-
	Acc.	Plants	RUN 54	RUN 155	RUN 157	RUN 969	RUN 919	RUN 928	RUN 147	RUN 523	RUN 145	RUN 913
48h	MM134	P1		1	1			2	2	2	1	
	MM134	P2		2	1	3	3	2		1	2	
	MM134	P3	1	2	1	2		2	1	2	2	
	MM127	P1			3	3						
	MM127	P2			3							
	MM127	P3	3		3	3	2	2	1			
	E7	P1	2		3	3		3	2	1		
	E7	P2				3		2	2	1		
	E7	P3	2			3		3	2			
Ers1 +	E6	P1	2		3	3			3			
Ers1 +	E6	P2		2	3	3	2		2			
Ers1 +	E6	P3	3		3	3	3		2			
Ers1 +	G020	P1	2		3	3	2					
Ers1 +	G020	P2	2				1					
Ers1 +	G020	P3			3							
Ers1 +	G043	P1			3	1	3	2	2	1		
Ers1 +	G043	P2	2		2	3	2	3	3			1
Ers1 +	G043	P3				3		3				2
Ers1 +	G244	P1			2	3		2	3			
Ers1 +	G244	P2	3					3		1		
Ers1 +	G244	P3			3	2		2	1	1		2
Ers1 +	G291	P1			3	2			3			
Ers1 +	G291	P2	2	2	1			3	1			
Ers1 +	G291	P3			3	2		2				
Ers1 -	E8	P1		2		3	3	3	1			2
Ers1 -	E8	P2			3	2	3	3	1	1		
Ers1 -	E8	P3			3	3	3	2	3	3		1
Ers1 -	G074	P1			3	2		1				
Ers1 -	G074	P2				3						
Ers1 -	G074	P3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ers1 -	G136	P1	2					2				
Ers1 -	G136	P2	3		3	1		3	3			
Ers1 -	G136	P3					2					
Ers1 -	G360	P1	1		2	1	3		2			2
Ers1 -	G360	P2	2		3		2	2	2	2		3
Ers1 -	G360	P3	3	3	3	2		2			1	3
CODE COULEUR HR			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CODE COLONISATION			0	1	2	3						

Figure 2a. Réactions observées sur les différentes accessions (Acc.), après 48h d'incubation. Les souches de *R.solanacearum* sont rangées par phylotype, et par allèle de popP2 (- : absence, 1 : 982 bp ; 3 : 950 bp). Les couples souche x accession colonisés sont figurés en grisé, avec leur classe de colonisation bactérienne.

	Phylotype		I	I	I	I	II	II	II	III	III	III
	Allèle		1	3	-	i	1	3	-	1	3	-
	Acc.	Plants	RUN 54	RUN 155	RUN 157	RUN 969	RUN 919	RUN 928	RUN 147	RUN 523	RUN 145	RUN 913
72h	MM134	P1		1	1			2	2	2	1	
	MM134	P2		2	1	3	3	2		1	2	
	MM134	P3	1	2	1	2		2	1	2	2	
	MM127	P1			3	3						
	MM127	P2			3							
	MM127	P3	3		3	3	2	2	1			
	E7	P1	2		3	3		3	2	1		
	E7	P2				3		2	2	1		
	E7	P3	2			3		3	2			
Ers1 +	E6	P1	2		3	3			3			
Ers1 +	E6	P2		2	3	3	2		2			
Ers1 +	E6	P3	3		3	3	3		2			
Ers1 +	G020	P1	2		3	3	2					
Ers1 +	G020	P2	2				1					
Ers1 +	G020	P3			3							
Ers1 +	G043	P1			3	1	3	2	2	1		
Ers1 +	G043	P2	2		2	3	2	3	3			1
Ers1 +	G043	P3				3		3				2
Ers1 +	G244	P1			2	3		2	3			
Ers1 +	G244	P2	3					3		1		
Ers1 +	G244	P3			3	2		2	1	1		2
Ers1 +	G291	P1			3	2			3			
Ers1 +	G291	P2	2	2	1			3	1			
Ers1 +	G291	P3			3	2		2				
Ers1 -	E8	P1		2		3	3	3	1			2
Ers1 -	E8	P2			3	2	3	3	1	1		
Ers1 -	E8	P3			3	3	3	2	3	3		1
Ers1 -	G074	P1			3	2		1				
Ers1 -	G074	P2				3						
Ers1 -	G074	P3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ers1 -	G136	P1	2					2				
Ers1 -	G136	P2	3		3	1		3	3			
Ers1 -	G136	P3					2					
Ers1 -	G360	P1	1		2	1	3		2			2
Ers1 -	G360	P2	2		3		2	2	2	2		3
Ers1 -	G360	P3	3	3	3	2		2			1	3
CODE COULEUR HR			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CODE COLONISATION			0	1	2	3						

Figure 2b. Réactions observées sur les différentes accessions (Acc.), après 72h d'incubation. Les souches de *R.solanacearum* sont rangées par phylotype, et par allèle de popP2 (- : absence, 1 : 982 bp ; 3 : 950 bp). Les couples souche x accession colonisés sont figurées en grisé, avec leur classe de colonisation bactérienne (0 : rien, 1, 2 et 3 : resp. 1, 2 et 3 secteurs colonisés).

	Allèle		1	1	1	3	3	3	-	i	-	-
	Phylotype		I	II	III	I	II	III	I	I	II	III
	Acc.	Plants	RUN 54	RUN 919	RUN 523	RUN 155	RUN 928	RUN 145	RUN 157	RUN 969	RUN 147	RUN 913
48h	MM134	P1			2	1	2	1	1		2	
	MM134	P2		3	1	2	2	2	1	3		
	MM134	P3	1		2	2	2	2	1	2	1	
	MM127	P1							3	3		
	MM127	P2							3			
	MM127	P3	3	2			2		3	3	1	
	E7	P1	2		1		3		3	3	2	
	E7	P2			1		2			3	2	
	E7	P3	2				3			3	2	
Ers1 +	E6	P1	2						3	3	3	
Ers1 +	E6	P2		2		2			3	3	2	
Ers1 +	E6	P3	3	3					3	3	2	
Ers1 +	G020	P1	2	2					3	3		
Ers1 +	G020	P2	2	1								
Ers1 +	G020	P3							3			
Ers1 +	G043	P1		3	1		2		3	1	2	
Ers1 +	G043	P2	2	2			3		2	3	3	1
Ers1 +	G043	P3					3			3		2
Ers1 +	G244	P1					2		2	3	3	
Ers1 +	G244	P2	3		1		3					
Ers1 +	G244	P3			1		2		3	2	1	2
Ers1 +	G291	P1							3	2	3	
Ers1 +	G291	P2	2			2	3		1		1	
Ers1 +	G291	P3					2		3	2		
Ers1 -	E8	P1		3		2	3			3	1	2
Ers1 -	E8	P2		3	1		3		3	2	1	
Ers1 -	E8	P3		3	3		2		3	3	3	1
Ers1 -	G074	P1					1		3	2		
Ers1 -	G074	P2								3		
Ers1 -	G074	P3										
Ers1 -	G136	P1	2				2					
Ers1 -	G136	P2	3				3		3	1	3	
Ers1 -	G136	P3		2								
Ers1 -	G360	P1	1	3					2	1	2	2
Ers1 -	G360	P2	2	2	2		2		3		2	3
Ers1 -	G360	P3	3			3	2	1	3	2		3
CODE COULEUR HR			0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CODE COLONISATION			0	1	2	3						

Figure 3a. Réactions observées sur les différentes accessions (Acc.), après 48h d'incubation. Les souches de *R.solanacearum* sont rangées par allèle de popP2, et par phylotype (- : absence, 1 : 982 bp ; 3 : 950 bp). Les couples souche x accession colonisés sont figurées en grisé, avec leur classe de colonisation bactérienne (0 : rien, 1, 2 et 3 : resp. 1, 2 et 3 secteurs colonisés).

	Allèle		1	1	1	3	3	3	-	i	-	-
	Phylotype		I	II	III	I	II	III	I	I	II	III
	Acc.	Plants	RUN 54	RUN 919	RUN 523	RUN 155	RUN 928	RUN 145	RUN 157	RUN 969	RUN 147	RUN 913
72h	MM134	P1			2	1	2	1	1		2	
	MM134	P2		3	1	2	2	2	1	3		
	MM134	P3	1		2	2	2	2	1	2	1	
	MM127	P1							3	3		
	MM127	P2							3			
	MM127	P3	3	2			2		3	3	1	
	E7	P1	2		1		3		3	3	2	
	E7	P2			1		2			3	2	
	E7	P3	2				3			3	2	
Ers1 +	E6	P1	2						3	3	3	
Ers1 +	E6	P2		2		2			3	3	2	
Ers1 +	E6	P3	3	3					3	3	2	
Ers1 +	G020	P1	2	2					3	3		
Ers1 +	G020	P2	2	1								
Ers1 +	G020	P3							3			
Ers1 +	G043	P1		3	1		2		3	1	2	
Ers1 +	G043	P2	2	2			3		2	3	3	1
Ers1 +	G043	P3					3			3		2
Ers1 +	G244	P1					2		2	3	3	
Ers1 +	G244	P2	3		1		3					
Ers1 +	G244	P3			1		2		3	2	1	2
Ers1 +	G291	P1							3	2	3	
Ers1 +	G291	P2	2			2	3		1		1	
Ers1 +	G291	P3					2		3	2		
Ers1 -	E8	P1		3		2	3			3	1	2
Ers1 -	E8	P2		3	1		3		3	2	1	
Ers1 -	E8	P3		3	3		2		3	3	3	1
Ers1 -	G074	P1					1		3	2		
Ers1 -	G074	P2								3		
Ers1 -	G074	P3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ers1 -	G136	P1	2				2					
Ers1 -	G136	P2	3				3		3	1	3	
Ers1 -	G136	P3		2								
Ers1 -	G360	P1	1	3					2	1	2	2
Ers1 -	G360	P2	2	2	2		2		3		2	3
Ers1 -	G360	P3	3			3	2	1	3	2		3
CODE	COULEUR	HR	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CODE	COLONISATION		0	1	2	3						

Figure 3b. Réactions observées sur les différentes accessions (Acc.), après 72h d'incubation. Les souches de *R.solanacearum* sont rangées par allèle de popP2, et par phylotype (- : absence, 1 : 982 bp ; 3 : 950 bp). Les couples souche x accession colonisés sont figurées en grisé, avec leur classe de colonisation bactérienne (0 : rien, 1, 2 et 3 : resp. 1, 2 et 3 secteurs colonisés).

C O L O N I S A T I O N	Phylotype		I	I	I	I	II	II	II	III	III	III
	Allèle		1	3	0	i	1	3	0	1	3	0
	Acc.	Plants	RUN 54	RUN 155	RUN 157	RUN 969	RUN 919	RUN 928	RUN 147	RUN 523	RUN 145	RUN 913
	MM134	P1	0	1	1	0	0	2	2	2	1	0
	MM134	P2	0	2	1	3	3	2	0	1	2	0
	MM134	P3	1	2	1	2	0	2	1	2	2	0
	MM127	P1	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0
	MM127	P2	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
	MM127	P3	3	0	3	3	2	2	1	0	0	0
	E7	P1	2	0	3	3	0	0	3	0	0	0
Ers1 +	E6	P1	2	0	3	3	0	3	2	1	0	0
Ers1 +	E6	P2	0	0	0	3	0	2	2	1	0	0
Ers1 +	E6	P3	2	0	0	3	0	3	2	0	0	0
Ers1 +	G020	P1	0	0	3	1	3	2	2	1	0	0
Ers1 +	G020	P2	2	0	2	3	2	3	3	0	0	1
Ers1 +	G020	P3	0	0	0	3	0	3	0	0	0	2
Ers1 +	G043	P1	0	0	2	3	0	2	3	0	0	0
Ers1 +	G043	P2	3	0	0	0	0	3	0	1	0	0
Ers1 +	G043	P3	0	0	3	2	0	2	1	1	0	2
Ers1 +	G244	P1	0	0	3	2	0	0	3	0	0	0
Ers1 +	G244	P2	2	2	1	0	0	3	1	0	0	0
Ers1 +	G244	P3	0	0	3	2	0	2	0	0	0	0
Ers1 +	G291	P1	0	2	0	3	3	3	1	0	0	2
Ers1 +	G291	P2	0	0	3	2	3	3	1	1	0	0
Ers1 +	G291	P3	0	0	3	3	3	2	3	3	0	1
Ers1 -	E8	P1	2	0	3	3	2	0	0	0	0	0
Ers1 -	E8	P2	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Ers1 -	E8	P3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
Ers1 -	G074	P1	0	0	3	2	0	1	0	0	0	0
Ers1 -	G074	P2	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
Ers1 -	G074	P3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ers1 -	G136	P1	2	0	0	0	0	2	0	0	0	0
Ers1 -	G136	P2	3	0	3	1	0	3	3	0	0	0
Ers1 -	G136	P3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Ers1 -	G360	P1	1	0	2	1	3	0	2	0	0	2
Ers1 -	G360	P2	2	0	3	0	2	2	2	2	0	3
Ers1 -	G360	P3	3	3	3	2	0	2	0	0	1	3

Figure 4a. Niveaux de colonisation observés sur les échantillons prélevés sur différentes accessions (Acc.) à proximité des zones d'infiltration. Les souches de *R.solanacearum* sont rangées par phylotype, et par allèle de popP2
(- : absence, 1 : 982 bp ; 3 : 950 bp).

0	absence de colonies de <i>R. solanacearum</i>
1	un secteur de la boîte colonisé par <i>R. solanacearum</i>
2	deux secteurs de la boîte colonisés par <i>R. solanacearum</i>
3	trois secteurs de la boîte colonisés par <i>R. solanacearum</i>

C O L O N I S A T I O N	Phylotype		I	II	III	I	II	III	I	I	II	III
	Allèle		1	1	1	3	3	3	0	i	0	0
	Acc.	Plants	RUN 54	RUN 919	RUN 523	RUN 155	RUN 928	RUN 145	RUN 157	RUN 969	RUN 147	RUN 913
	MM134	P1	0	0	2	1	2	1	1	0	2	0
	MM134	P2	0	3	1	2	2	2	1	3	0	0
	MM134	P3	1	0	2	2	2	2	1	2	1	0
	MM127	P1	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0
	MM127	P2	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
	MM127	P3	3	2	0	0	2	0	3	3	1	0
	E7	P1	2	0	0	0	0	0	3	3	3	0
	E7	P2	0	2	0	2	0	0	3	3	2	0
	E7	P3	3	3	0	0	0	0	3	3	2	0
Ers1 +	E6	P1	2	0	1	0	3	0	3	3	2	0
Ers1 +	E6	P2	0	0	1	0	2	0	0	3	2	0
Ers1 +	E6	P3	2	0	0	0	3	0	0	3	2	0
Ers1 +	G020	P1	0	3	1	0	2	0	3	1	2	0
Ers1 +	G020	P2	2	2	0	0	3	0	2	3	3	1
Ers1 +	G020	P3	0	0	0	0	3	0	0	3	0	2
Ers1 +	G043	P1	0	0	0	0	2	0	2	3	3	0
Ers1 +	G043	P2	3	0	1	0	3	0	0	0	0	0
Ers1 +	G043	P3	0	0	1	0	2	0	3	2	1	2
Ers1 +	G244	P1	0	0	0	0	0	0	3	2	3	0
Ers1 +	G244	P2	2	0	0	2	3	0	1	0	1	0
Ers1 +	G244	P3	0	0	0	0	2	0	3	2	0	0
Ers1 +	G291	P1	0	3	0	2	3	0	0	3	1	2
Ers1 +	G291	P2	0	3	1	0	3	0	3	2	1	0
Ers1 +	G291	P3	0	3	3	0	2	0	3	3	3	1
Ers1 -	E8	P1	2	2	0	0	0	0	3	3	0	0
Ers1 -	E8	P2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0
Ers1 -	E8	P3	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
Ers1 -	G074	P1	0	0	0	0	1	0	3	2	0	0
Ers1 -	G074	P2	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0
Ers1 -	G074	P3	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ers1 -	G136	P1	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
Ers1 -	G136	P2	3	0	0	0	3	0	3	1	3	0
Ers1 -	G136	P3	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0
Ers1 -	G360	P1	1	3	0	0	0	0	2	1	2	2
Ers1 -	G360	P2	2	2	2	0	2	0	3	0	2	3
Ers1 -	G360	P3	3	0	0	3	2	1	3	2	0	3

Figure 4b. Niveaux de colonisation observés sur les échantillons prélevés sur différentes accessions (Acc.) à proximité des zones d'infiltration. Les souches de *R.solanacearum* sont rangées par allèle de popP2, et par phylotype
(- : absence, 1 : 982 bp ; 3 : 950 bp).

0	absence de colonies de <i>R. solanacearum</i>
1	un secteur de la boîte colonisé par <i>R. solanacearum</i>
2	deux secteurs de la boîte colonisés par <i>R. solanacearum</i>
3	trois secteurs de la boîte colonisés par <i>R. solanacearum</i>

ABSTRACT

Ralstonia solanacearum, a soilborne bacterium causing bacterial wilt, is a threat for vegetable crops throughout tropical and subtropical areas. Host resistance remains the most effective control against this disease; however, developing universally resistant accessions is made difficult by (i) the partial levels of resistance reported, (ii) strong genotype – environment interactions, and (iii) the wide genotypic and phenotypic plasticity of the bacterium. Studies performed by A. LEBEAU allowed to establish that eggplant AG91-25 (E6) resistance was conferred by the dominant gene *ERs1* and at least one minor QTL. Gene *ERs1* confers total resistance to 3 strains (including GMI1000, the first sequenced genome of *R.solanacearum*), but is overcome by the strain PSS4 (known as RUN157). The study of another resistance source (breeding *S. melongena* MM738(S) * *S. linneanum* MM195 (R)) has been undertaken with the inoculation of strain PSS4.

This traineeship aimed to map MM195 (E6) resistance factors versus strains GMI1000 and PSS4 on the linkage map. The disease progression, caused by strain GMI1000 under a greenhouse, was monitored and analyzed for a population of 60 F3 lines. In spite of the strong effect induced by seasons' variation and the bias resulting from the low number of individuals studied, we succeeded in mapping a shared resistance QTL against GMI1000 and PSS4 on the 9th linkage group belonging to the AFLP linkage map.

At the same time, the study of the distribution of *R.solanacearum*'s type III effectors enabled to identify several effectors highly associated with avirulence (*PopP1* and *PopP2* among others) and with virulence on eggplant, more particularly on accession AG91-25 which brings the main resistance gene *ERs1*. Thus, the second aim of this traineeship dealt with testing the hypothesis that resistance conferred by *ERs1* was specifically induced by the recognition of PopP2. Tests whose purpose was to underline hypersensitive reactions on lines resulting from the cross between AG91-25 and MM738 were lead with AG92-25 as the positive control for *ERs1* and MM738 as the negative control. However, the uncertainty concerning the nature of the two alleles of PopP2, the probable influence of other effectors, the bias due to the method and the low number of repetitions didn't allow us to confirm the hypothesis of a gene-to-gene connection. Nevertheless, the results we obtained show a combined influence of the phylotype and the allele on the strains behaviour and their capacity to colonize host plants.

Pour citer cet ouvrage : [MORIN, Emilie, (2011). Résistance de l'aubergine au flétrissement bactérien (*Ralstonia solanacearum*) : cartographie génétique de la résistance de MM195 et caractérisation phénotypique de l'interaction *ERs1* / *popP2*. Rapport de stage, deuxième année ingénieur agronome, Montpellier SupAgro. 69 pages.]

Montpellier SupAgro, Centre international d'études supérieures en sciences agronomiques de Montpellier, 2 place Pierre Viala, 34060 Montpellier cedex 02. <http://www.supagro.fr>